PLANTA

ARCHIV
FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

40. BAND

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN, **G. TISCHLER**-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND **OTTO RENNER**

40. BAND

MIT 241 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1951/52

Unveränderter Nachdruck 1974
Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York
Herstellung:
Strauß & Cramer GmbH, 6901 Leutershausen

Inhalt des 40. Bandes.

1. Heft.

(Abgeschlossen am 9. Oktober 1951.)

Seite

VARESCHI, V., Zur Frage der Oberflächenentwicklung von Pflanzengesellschaften der Alpen und Subtropen. Mit 6 Textabbildungen 1

GUTTENBERG, H., VON, und A. BEYTHIEN, Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Mit 6 Textabbildungen . 36

ROSENSTOCK, G., Kohlendioxyd-Entbindung nichtassimilierender Gewebe im Licht. Kritische Studien zum Problem der Lichtatmung. Mit 14 Textabbildungen 70

2. Heft.

(Abgeschlossen am 6. November 1951.)

HEIMERDINGER, G., Zur Mikrotopographie der Saftströme im Transfusionsgewebe der Koniferennadel. II. Mitteilung. Mit 21 Textabbildungen . . 93

HUBER, B., und G. MERKENSCHLAGER, Über die Wirkung kleinster Saugkräfte auf die Samenkeimung. Mit 8 Textabbildungen 112

RABIGER, F. H., Untersuchungen an einigen Acanthaceen und Urticaceen zur Funktion der Cystolithen. Mit 6 Textabbildungen 121

VOGT, I., Über den Hemmstoff- und Wuchsstoffgehalt in Getreidewurzeln. Mit 12 Textabbildungen 145

SCHADE, CHR., und H. VON GUTTENBERG, Über die Entwicklung des Wurzelvegetationspunktes der Monokotyledonen. Mit 22 Textabbildungen . . . 170

3. Heft.

(Abgeschlossen am 28. Dezember 1951.)

PIRSON, A., C. TICHY und G. WILHELMI, Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. I. Mitteilung. I. Vergleichende Untersuchungen an Mangelkulturen von Ankistrodesmus. Mit 17 Textabbildungen . . . 199

MOEWUS, F., L. MOEWUS und H. SKWARRA, Nachweis von zwei Wuchsstoffen in Samen und Wurzeln der Kresse *(Lepidium sativum)*. Mit 7 Textabbildungen 254

SCHEUERMANN, R., Der Einfluß wasserlöslicher Vitamine auf die Wirksamkeit von Heteroauxin im Wachstumsprozeß der höheren Pflanzen. Mit 20 Textabbildungen 265

4. Heft.

(Abgeschlossen am 8. Februar 1952.)

STIEFEL, S., Über Erregungsvorgänge bei der Einwirkung von photischen und mechanischen Reizen auf *Coprinus*-Fruchtkörper. Mit 11 Textabbildungen 301

SIMONIS, W., Untersuchungen zum Dürreeffekt. I. Mitteilung. Morphologische Struktur, Wasserhaushalt, Atmung und Photosynthese feucht und trocken gezogener Pflanzen. Mit 4 Textabbildungen 313

Seite

Haccius, B., Über die Blattstellung einiger Hydrocharitaceen-Embryonen. Mit 9 Textabbildungen 333

Kandler, O., Über eine physiologische Umstimmung von Sonnenblumenstengelgewebe durch Dauereinwirkung von β-Indolylessigsäure. Mit 1 Textabbildung 346

Roth, I., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Schildblätter. Mit 16 Textabbildungen 350

5. Heft.

(Abgeschlossen am 1. April 1952.)

Heimann, M., Abhängigkeit des Blutungsverlaufes von Beleuchtung und Blattzahl. (Untersuchungen an Kalanchoë Bloßfeldiana.) Mit 10 Textabbildungen 377

Gessner, F., Der Druck in seiner Bedeutung für das Wachstum submerser Wasserpflanzen. Mit 5 Textabbildungen 391

Bringmann, G., Über Beziehungen der Kernäquivalente von Schizophyten zu den Mitochondrien höher organisierter Zellen. Mit 2 Textabbildungen 398

Höhn, K., Nachreifestudien an *Datura*-Samen. Mit 2 Textabbildungen. 407

Raadts, E., Über den inaktiven Wuchsstoff der Haferkoleoptile. Mit 1 Textabbildung 419

Guttenberg, H. v., und G. Meinl, Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. II. Mitteilung. Über den Einfluß des p_H-Wertes und der Temperatur auf die durch Heteroauxin bedingten Veränderungen der Wasserpermeabilität 431

6. Heft.

(Abgeschlossen am 6. August 1952.)

Haccius, B., Die Embryoentwicklung bei *Ottelia alismoides* und das Problem des terminalen Monokotylen-Keimblatts. Mit 9 Textabbildungen . . . 443

Zech, H., Untersuchungen über den Infektionsvorgang und die Wanderung des Tabakmosaikvirus im Pflanzenkörper. Mit 18 Textabbildungen . . . 461

Bauer, L., Studien zum Heterophyllieproblem. Mit 2 Textabbildungen . . . 515

Engel, H., und I. Friederichsen, Weitere Untersuchungen über periodische Guttation etiolierter Haferkeimlinge. Mit 12 Textabbildungen 529

Walter, H., Kritisches zur Darstellung der osmotischen Zustandsgrößen in den verschiedenen Lehrbüchern der Botanik 550

Autorenverzeichnis 555

Planta, Bd. 40, S. 1—35 (1951).

Instituto Botanico, Ministerio de Agriculture y cria Caracas, Venezuela.

ZUR FRAGE DER OBERFLÄCHENENTWICKLUNG VON PFLANZENGESELLSCHAFTEN DER ALPEN UND SUBTROPEN.

Von

VOLKMAR VARESCHI.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. April 1951.)

Einleitung.

Die mitreißende Überzeugungskraft jedes Lehrbuches, das seinen Stoff straff und lückenlos zusammenfaßt, festigt einerseits den Grund, auf dem die weitere Forschung aufbaut; sie kann andererseits aber auch ein Hemmschuh für künftige Arbeiten sein, wenn das Lehrbuch in dem Sinne mißverstanden wird, als sei in ihm ein Wissensgebiet endgültig abgeschlossen. Einen bezeichnenden Beleg dafür innerhalb der Biologie bildet die Zusammenstellung der „Merkmale des Gesellschaftsgefüges", welche BRAUN-BLANQUET in seinem bekannten Lehrbuch der „Pflanzensoziologie" (1928) vorträgt. Er unterscheidet quantitative Merkmale, und zwar Abundanz, Dichtigkeit, Raum, Gewicht, Soziabilität, Verteilung, Frequenz, und qualitative Merkmale, nämlich Schichtung, Vitalität und Periodizität. Es ist bestimmt nicht die Schuld des um die Vegetationskunde verdienten Autors, sondern die eines großen Teiles seiner Leser, wenn man bei der Durchsicht vieler vegetationskundlicher Arbeiten den Eindruck hat, als sei BRAUN-BLANQUET so verstanden worden, daß damit bereits *alle* Merkmale des Gesellschaftsgefüges erfaßt seien. Das ist keineswegs der Fall. Nicht einmal eine so wesentliche Eigenschaft wie die der Gleichförmigkeit (Homogenität, vgl. die grundlegenden Studien darüber bei NORDHAGEN 1928) ist damit genannt. Dadurch aber, daß die neuere Biocoenosenforschung das Ziel verfolgt, die Tierwelt soweit als irgend möglich gleichzeitig mit der Vegetation zu erfassen und dabei der Frage nach der Form der Gemeinschaften, die nach ihrer *Leistung* hinzuzufügen (GAMS 1940, VARESCHI 1943, ZÖTTL 1950), erweitert sich der Kreis der wichtigen Merkmale noch mehr.

Eines der wesentlichsten und mit der Leistungsfrage am stärksten verknüpften Merkmale, das bisher völlig vernachlässigt wurde, ist das der *Oberflächenentwicklung* von Lebensgemeinschaften.

Alle stofflichen Umsetzungen, welche eine Pflanzengesellschaft, ebenso wie die mit ihr verschränkten Tiergemeinschaften in ihrem „Fließgleichgewicht" (DOTTERWEICH 1940) erhalten, sind weitgehend

abhängig von der Oberflächenausdehnung der Stoffwechselorgane aller ihrer Glieder. Dabei ist die wirksame Oberfläche der stoffkonsumierenden Tiere vor allem im Inneren ihres Körpers, die der stoffproduzierenden grünen Pflanzen und stoffreduzierenden Bakterien dagegen vorwiegend nach außen zu, gegen die Umgebung hin, entfaltet. Die Gesamtheit der assimilierenden, grünen Oberflächen einer Lebensgemeinschaft gibt — zahlenmäßig erfaßt — *einen Schlüsselwert*, der die betreffende Lebensgemeinschaft nicht bloß beschreiben hilft, sondern darüber hinaus auch noch Rückschlüsse auf ihre Leistung zuläßt. Die Assimilationsforschung hat zwar erwiesen, daß die Stoffproduktion der autotrophen Pflanzen außer von ihrer grünen Oberfläche auch noch von zahlreichen inneren und äußeren Bedingungen abhängt. Solche innere Faktoren sind u. a.: Spaltöffnungsdichte, -bau und -zustand, Chlorophyllkonzentration, Bau und Zustand der Leitgewebe zum Abtransport der Assimilate und der Ernährungszustand des Blattes. Äußere Faktoren sind die Klima- und Bodeneigenheiten. Alle diese Einflüsse vermögen aber, wie die Arbeiten von BORNEMANN (1923), BOYSEN-JENSEN (1932), HEATH (1938), LUNDEGÅRDH (1924) und MÜLLER (1932) gezeigt haben, die *ausschlaggebende Wirkung der Oberflächengröße* nicht zu verdecken. Die assimilatorische Leistung — ausgedrückt in der „Mittleren Nettoassimilationsmenge" für 1 m² grüner Oberfläche und Woche — ist für Angehörige von 7 Familien aus 5 verschiedenen Klimagebieten trotz der damit gegebenen weit voneinander abweichenden inneren und äußeren Bedingungen nahezu gleich, nämlich 56 g mit einer Schwankung von nur $\pm$ 15 g[1]. Die von Species zu Species schwankenden Einflüsse wirken also eher ausgleichend als störend, so daß die assimilatorische Leistung grüner Pflanzenorgane innerhalb einer gewissen Fehlergrenze als weitgehend konstant angesehen werden muß.

Damit aber ist der Oberflächenentwicklung von Pflanzengemeinschaften nicht nur ein beschreibender, sondern auch ein essentieller Wert zur Kennzeichnung ihrer Leistungsfähigkeit zuzubilligen, ein Wert, der sich außer durch die erwähnten Ergebnisse der physiologischen Forschung vor allem in den praktischen Meßergebnissen der Vegetations-

[1] Im einzelnen werden folgende Angaben der mittleren Nettoassimilationsmenge gemacht:

Hordeum sativum	Rothamsted	54,6 g/m² Woche
Gossypium	Südafrika	56,7 g/m² Woche
Gossypium	Sudan	68,5 g/m² Woche
Sinapis alba	Bonn	50,6 g/m² Woche
Beta vulg. Cicla	Rothamsted	60,1 g/m² Woche
Beta vulg. Rapa	Rothamsted	64,3 g/m² Woche
Cucurbita Pepo	Cheshunt	41,3 g/m² Woche
Solanum Lycopersicum	Cheshunt	50,0 g/m² Woche
Scilla nutans	Cheshunt	61,5 g/m² Woche

forschung und im Vergleich der „Oberflächenenergie" verschiedener Assoziationen bewährt.

Die im folgenden mitgeteilten Vegetationsbearbeitungen bedienen sich daher neben den üblichen Merkmalen der Darstellung auch noch des Merkmales der Oberflächenentwicklung von Pflanzengemeinschaften und jeder diese Gemeinschaften zusammensetzenden Art. Die Beispiele entstammen zwei weit auseinander liegenden Florengebieten: Dem alpin-mitteleuropäischen und dem der südamerikanischen Küstenkordillere; ersteres vertreten durch das Habachtal in den Hohen Tauern, letzteres durch die weiten Südhänge der durch HUMBOLDTs Besteigung berühmten Silla de Caracas im Norden von Venezuela. Aus beiden Gebieten wurden Belege aus verschiedenen Höhenstufen zum Vergleich herangezogen.

Die Arbeiten in den Alpen erfolgten im Rahmen des Sven-Hedin-Institutes, dessen Leiter, Dozent Dr. ERNST SCHÄFER, ich für freundschaftliche Förderung dankbar bin. Meiner Assistentin, Frl. L. MATHIEU, möchte ich für die unermüdliche Hilfeleistung bei der Durchführung der zeitraubenden Messungen und Wägungen bestens danken. Herrn Dr. TOBIAS LASSER, dem Leiter des Nationalherbariums in Caracas bin ich für wohlwollendes Verständnis und Förderung meiner Tropenarbeit sehr zu Dank verpflichtet, ebenso meinem Begleiter und Helfer auf den oft sehr mühevollen Exkursionen, Herrn FRITZ PANNIER.

I. Teil: Untersuchungen im Habachtal.

Erd- und vegetationskundliches Gepräge.

Das Habachtal ist ein zentralalpines Hochtal im Bereich der Hohen Tauern. Der Tauernkamm und das Salzachtal liegen — vergleichbar den Holmen einer Leiter — völlig parallel. Wie die Sprossen zwischen den Holmen verlaufen 12 einander sehr formähnliche Quertäler vom Hauptkamm zum Salzachtal herab. Eines der durch den Menschen am wenigsten veränderten davon ist das Habachtal. Sein unterer, nördlichster Abschnitt (1000—1200 m) zeigt ein V-förmiges Querschnittsbild (Erosionstal), der Hauptteil dagegen ist durch eine geradezu klassisch klar ausgebildete Trogform (Gletscherwirkung) ausgezeichnet (1200—1900 m der Talsohle). Es folgt ein zum Teil vergletschertes Halbrund als Talschluß, überragt von einer Reihe von Gipfeln, welche, alle um 3000 m hoch, das Gebiet nach Süden zu abschließen. Die Hochpässe zwischen ihnen sind nur rund 100 m niedriger als die Gipfel. Die oberste menschliche Dauersiedlung liegt an der Einmündung ins Salzachtal; hier, in der „Klause" richtete ich für mehrere Jahre eine Station für alpine Vegetationsforschung ein, von welcher unter anderem auch die vorliegende Arbeit ausging. Im Bereich der „Klause" liegt auch der einzige intensiv genutzte Pflanzenbestand des Tales, eine kleine regelmäßig gedüngte und gemähte Fettwiese. Sonst kommt es nur zu

extensiver Nutzung (Holzausschlag und Weidebetrieb), und selbst diese ist auf weite Strecken hin durch die Unzugänglichkeit des Gebietes sehr erschwert. Im V-Teil des Tales herrscht an den feuchtesten Stellen Erlenwald vor (*Alnetum incanae adenostylidosum*), an den flacheren Hängen Fichtenwald (*Piceetum myrtillosum*). Ökologisch und geographisch zwischen diesen beiden Gesellschaften steht ein moosreicher Fichtenwald (*Piceetum muscosum*), der jedoch nicht so einheitlich entwickelt ist wie die beiden andern Waldtypen, so daß er für die Oberflächenuntersuchungen nicht verwendet wurde. Alle diese Pflanzengesellschaften liegen zwischen 1000 und 1100 m. In höheren Stufen wird das *Alnetum incanae adenostylidosum* durch das *Alnetum viridis*, der Myrtillusfichtenwald durch den Alpenrosenfichtenwald verdrängt. Alpenrosenzwerggesträuch beherrscht auch noch den Unterwuchs des zwischen 1800 und 2000 m gelegenen Zirbenwaldgürtels (*Cembretum rhododendrosum*) und reicht ohne Baumschicht noch 100—300 m über den Waldgürtel hinaus. In dieser Höhenlage breiten sich die Weideflächen der Klein- und Großweidalm aus. Auf ihnen ist je nach dem Grad der Beweidung, Düngung und Bewässerung *Festucetum ovinae*, *Agrostidetum alpinae*, Nardetum oder Lägerflur entwickelt. Alle diese Gesellschaften hängen mit der Alpwirtschaft zusammen. Erst in einer Höhe von ungefähr 2500 m müssen sie wieder natürlicher Vegetation weichen: Hier breitet sich das Curvuletum (*Caricetum curvulae*) mit seinen Schneetälchen (*Salicetum herbaceae* und *Polytrichetum sexangularis*) aus und auf vorwiegend minerogenen Böden die Polsterpflanzenflur, in der *Silene acaulis* dominiert. Diese Polsterpflanzen ergeben auf kleinen Flächen oft noch fast geschlossene Vegetation (bis 2700 m). Darüber kommen ebenfalls noch Polsterpflanzen vor — beherrschend ist dann *Androsace glacialis* —, aber die Pflanzendecke ist nirgends mehr geschlossen, 98% des Bodens und mehr bleiben unbewachsen.

Von diesen Pflanzengesellschaften wurden in 3 Höhenstufen 6 Bestände für unsere Untersuchung ausgewählt:

1. In 1000—1050 m: Eine Fettwiese, ein Heidelbeer-Fichtenwald und ein Drüsengriffel-Grauerlenwald.

2. In 2600—2680 m: Ein Schneetälchen und eine Polsterpflanzenflur.

3. In 2950 m: Die Eismannsschildvegetation.

Die ausführliche Behandlung von Orographie, Kleinklima, Boden und Pflanzendecke des Habachtales muß einer späteren Mitteilung vorbehalten bleiben. Schon aus dieser nur andeutenden Beschreibung aber dürfte hervorgehen, daß das Gebiet und seine Pflanzendecke keinen Sonderfall darstellt, daß es vielmehr den weitverbreiteten Typus des zentralalpinen Hochtales unverfälscht, ja beispielhaft rein zur Anschauung bringt.

Die wichtigsten Pflanzengesellschaften und ihre assimilierende Oberfläche.

1. Die Fettwiese bei der „Klause".

Die Fettwiese wird seit ungefähr 30 Jahren sorgfältig entsteint, besät, gedüngt und zweimal jährlich gemäht. Trotzdem *Arrhenatherum elatius* nur ganz sporadisch in ihr vorkommt, erweist sie sich beim Vergleich ihrer Artenliste als mit den *Arrhenathereta* des Salzachtales verwandt, und wurde so als eine artenarme Facies des *Arrhenatheretum elatioris* aufgefaßt. Sie ist produktionsbiologisch deshalb wichtig, weil sie durch ihre Leistung die Möglichkeiten eines in 1000 m ü. M. intensiv bewirtschafteten Bodens andeutet.

Der Boden ist steinreich. Sein p_H schwankt je nach Ort und Jahreszeit zwischen 5,25 und 6,25 (gemessen mit Lautenschläger-Ionometer).

Tabelle 1. *Vegetationsaufnahme des Arrhenatheretum elatioris:* (1)[1].

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Oberfläche	
		m²	%
Poa trivialis	3	5,70	49,3
Poa pratensis	+	0,06	
Dactylis glomerata	2	2,35	
Deschampsia caespitosa	+	0,04	
Arrhenatherum elatius	1	0,08	
Anthoxanthum odoratum	+	0,09	
Festuca rubra	1	0,05	
Holcus mollis	+	0,01	
Gräser insgesamt	5	8,38	72,6
Rumex alpinus	1	0,07	
Rumex arifolius	1	0,27	
Heracleum sphondylium	3	0,96	
Angelica silvestris	+	0,01	
Plantago media	1	0,28	
Taraxacum officinale	2	0,19	
Großblättrige Kräuter	3	1,78	15,4
Carex canescens	+	0,01	
Plantago lanceolata	1	0,14	
Viola tricolor	+	0,02	
Veronica chamaedrys	+	0,03	
Silene inflata	+	0,18	
Trifolium pratense	2	0,66	
Trifolium montanum	1	0,10	
Carum carvi	1	0,05	
Bellis perennis	+	0,08	
Leontodon hispidus	+	0,10	
Chrysanthemum Leucanthemum	+	0,02	
Übrige Pflanzen	2	1,39	12,0
Gesamtoberfläche der grünen Organe in Quadratmeter je 1 m² Probefläche		11,55	100,0

[1] Die eingeklammerten Zahlen am Kopf der Tabellen beziehen sich auf Abb. 6.

Der Bestand ist überall geschlossen und ohne deutliche Schichtung, wenn auch die Haupthorizonte der Kleeblätter, Gräser und Stauden im großen und ganzen getrennt verlaufen. Der Bestand wird kurz vor dem Ausreifen der führenden Gräser gemäht.

Unsere Untersuchung bestand zuerst in einer Schätzungsaufnahme, wie sie nach BRAUN-BLANQUET üblich ist. Dabei galt als Deckungsgrad 5, wenn $^3/_4$—$^4/_4$ der Probefläche allein von der betreffenden Art bedeckt war. Deckungsgrad 4: $^1/_2$—$^3/_4$ der Probefläche; Deckungsgrad 3: $^1/_4$—$^1/_2$ der Probefläche; Deckungsgrad 2: $^1/_{20}$—$^1/_4$ der Probefläche; Deckungsgrad 1: unter $^1/_{20}$ der Probefläche; Deckungsgrad +: Nur in Spuren vorhanden.

Es wurden 6 Probeflächen so genau als möglich nach dieser Schätzungsmethode bearbeitet. Die Probeflächengröße war 1 m².

Dann wurden diese 6 Probeflächen abgeerntet, die Arten jeder Fläche getrennt und jede für sich auf ihre Oberflächenentwicklung hin vermessen. Es zeigte sich, daß es je nach der Gleichmäßigkeit ihrer Entwicklung genügte, zwischen 20 und 140 Blätter zu vermessen und das so gewonnene Flächenmaß nach Wägung aller Blätter auf die ganze Ernte der Art auszudehnen. Die Oberflächenmessung geschah entweder unmittelbar durch Planimetrieren oder durch Aufpausen der Blätter auf Papier, Ausschneiden und Wägen der Papierblätter, deren Fläche je Gramm Gewicht bekannt war. Alle Angaben über Oberflächen beziehen sich auf das einseitige Maß der grünen Organe und auf alle Pflanzen der Art über 1 m² Boden. Das gilt auch für alle folgenden Vegetationsaufnahmen.

Wenn auch der Deckungsgrad mit der Oberflächenentfaltung theoretisch nichts zu tun hat, so wird er doch praktisch als Ausdruck der räumlichen Entwicklung der Arten verwertet, während viel eher die Oberflächenmessung dafür eingesetzt werden dürfte. Es ist also wichtig, einmal an einigen Beispielen die geschätzten Deckungswerte mit der tatsächlichen Oberflächenentwicklung zu vergleichen. Dabei ist der Unterschied naturgemäß dann am größten, wenn 2 Arten gleichen Dekkungsgrades ihre Blattflächen verschieden gestellt haben. So hat *Poa trivialis* ebenso wie *Heracleum sphondylium* den Deckungsgrad 3. Selbst der erfahrene Pflanzensoziologe wird unter der Suggestion dieser Zahl dazu neigen, beiden Pflanzen im Leistungsmechanismus der Gesellschaft eine ähnliche Rolle zuzubilligen. Die Oberflächenmessung ergibt dagegen, daß *Poa* fast 6mal soviel Blattflächen hat als *Heracleum*. Das ist eine ganz allgemeine Erscheinung, die den Messenden immer wieder überrascht: Ausgesprochen großflächige, in die Augen springende Pflanzen, wie sie hier in der Gruppe der „Großblättrigen Kräuter" zusammengefaßt sind, tragen viel weniger zur Gesamtoberfläche des Bestandes bei, als Pflanzen mit kleinen aber dafür zahlreichen Blättern. In unseren Probeflächen entwickelten die großblättrigen Pflanzen 15,4%, die

Gräser aber 72,6% der Gesamtfläche. Dem optischen Eindruck nach würde man eher das umgekehrte Zahlenverhältnis vermuten!

Die gesamte assimilierende Oberfläche beträgt das 11,5fache von der des bewachsenen Bodens. Diese Zahl ist für den Leistungsvergleich verschiedener Pflanzengesellschaften gerade deshalb wichtig, weil sie von allen systematischen und morphologischen Eigenheiten absieht und nur die Beziehung Boden-Blattfläche betrifft; damit nämlich spiegelt sie grob, aber im ganzen doch bezeichnend, die Möglichkeiten der Vegetation in bezug auf Wuchs-, Assimilations-, Atmungs- und Transpirationsleistung wieder.

Ausgehend von der Annahme einer annähernd konstanten mittleren Nettoassimilationsmenge ($\pm$ 56 g s. S. 2) ergibt sich für die Fettwiese während der kurzen Zeitspanne ihrer optimalen Entwicklung eine wöchentliche Produktionsleistung von 647 g.

Eine Erörterung dieser hier noch zusammenhanglosen Zahlen ist erst möglich, wenn durch die übrigen Messungen die Vergleichsbasis geschaffen ist.

2. Der Heidelbeerfichtenwald am Taleingang.

Der Fichtenbestand ist sehr gleichmäßig entwickelt. Er wird regelmäßig genutzt und hat einen plenterwaldartigen Aufbau. Der Boden ist durch leichtverwitternden, biotitreichen Phyllit tiefgründig und humusreich. Sein p_H ist sauer: 4,30—5,55. In der Baumschicht kommen durchschnittlich 920 Stämme auf den Hektar, so daß jeder Baum einen Standraum von etwa 10,9 m² hat. Das Alter ist ungleich, im Mittel 65 Jahre, die ältesten Stämme sind 145jährig. Wenn man von der gelegentlich herdenweise auftretenden Verjüngung absieht, fehlt eine Gebüschschicht. Dafür ist die Zwergstrauchschicht durch einen sehr gleichmäßig entwickelten Heidelbeerbestand auf weite Strecken hin geschlossen. Die Artenzahl ist sehr gering. Daß neben den in den Probeflächen genannten Arten auch *Listera cordata* gefunden wurde, kennzeichnet die Vegetation als ursprünglich, da diese dort in künstlichen Aufforstungen auf fichtenfeindlichen Böden nicht auftritt. Unter der Zwergstrauchschicht findet sich noch eine geschlossene Bodenschicht von Moosen.

Die Bearbeitung der Vegetation erfolgte ähnlich wie bei der Fettwiese. Die vielen Moose bildeten kein grundsätzliches Hindernis für die Oberflächenmessungen; sie waren lediglich mühsamer und unter dem Mikroskop zu bearbeiten, sonst wurden sie gleich wie die Phanerogamen behandelt. Für die Bestimmung der Oberfläche der Fichtennadeln wurden 6 m² mit für den Bestand typischer Kronendeckung ausgesucht und alle Nadeln über dieser Bodenfläche geerntet und gewogen. Dann wurden 150 Nadeln vermessen und gewogen und ihre Fläche auf das

Tabelle 2. *Vegetationsaufnahme des Piceetum myrtillosum* (2).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Oberfläche	
		m^2	%
Picea excelsa (Baumschicht) . . .	4	7,82	77,0
Vaccinium Myrtillus	4	1,84	
Vaccinium vitis idaea	2	0,16	
Zwergstrauchschicht	4	2,00	19,7
Blechnum spicant	1	0,05	
Dryopteris Linneana	+	0,02	
Deschampsia flexuosa	+	0,02	
Calamagrostis villosa	1	0,16	
Homogyne alpina	1	0,03	
Soldanella pusilla	+	0,01	
Picea exc.-Keimpflanzen	+	0,04	
Feldschicht ohne Zwergstrauch . .	2	0,33	3,2
Zwergstrauch und Feldschicht . .		2,33	22,9
Gesamtoberfläche der grünen Organe in Quadratmeter je 1 m^2 Probefläche ohne Moosschicht .		10,15	100,0
Sphagnum quinquefarium	3	3,84	
Hylocomium proliferum	3	7,15	
Dicranum scoparium	1	1,36	
Mastigobryum trilobatum	1	0,62	
Pleurozium Schreberi	+	0,28	
Rhythidiadelphus loreus	+	0,02	
Cladonia furcata	(+)	—	
Moosschicht	5	13,27	130,7
Gesamtoberfläche aller Schichten		23,42	

Gewicht der ganzen Ernte bezogen. Das Resultat stimmte mit den von BÜSGEN und anderen gewonnenen Oberflächenberechnungen größenordnungmäßig überein.

Auch hier zeigen sich die schon von der Fettwiese her bekannten Spannungen zwischen den Werten des geschätzten Deckungsgrades und denen der gemessenen Oberfläche: Fichte und Heidelbeere bedecken beide etwa die Hälfte der Probefläche. Bei der Schätzung des Deckungsgrades der Baumschicht wurde zur Erhöhung der Genauigkeit der Ramienski-Spiegel benutzt (RAMIENSKI 1932). So geschätzt erhielten Fichte und Heidelbeere beide den Deckungsgrad „4"; aber die Oberflächenentwicklung der Fichte war dabei 4mal so groß als die der Heidelbeerblätter und Stämmchen[1]. In der Feldschicht übertrifft die unscheinbare *Calamagrostis* (Deckungsgrad 1) das viel augenfälligere *Blechnum* (Deckungsgrad 1) der Oberfläche nach um das 3fache.

Noch eindrucksvoller ist die Oberflächenenergie bei der kleinblättrigen Moosschicht verwirklicht. Obwohl z. B. bei *Sphagnum* nur die

[1] Selbstverständlich mußten bei *Vaccinuum Myrtillus* die grünen, assimilierenden Stämmchen in die Oberflächenberechnung miteinbezogen werden.

Flächen der dünnen, chlorophyllführenden Zellen der Blätter und Stämmchen vermessen wurden und obwohl *Sphagnum* noch nicht $^1/_3$ der Probeflächen bedeckte, entwickelte es doppelt so viel Oberfläche als die geschlossene Heidelbeerdecke. Noch größer ist die assimilierende Fläche bei *Hylocomium proliferum*: Mehr als 7 m² Blattfläche über 1 m² Boden! Solche Oberflächen kommen trotz der Kleinheit der Einzelblättchen durch ihre große Anzahl zustande, hatte doch eine einzige Hylocomiumpflanze mit 6 grünen Jahrestrieben bereits 35600 Blätter. Selbstverständlich dürfen diese hohen Oberflächenwerte der Moose nicht als vergleichbar mit solchen der Phanerogamen gelten. Bekanntlich bleibt die Produktionsleistung der Moose sowohl im Freien wie in der Versuchsanordnung des Physiologen weit hinter der der höheren Pflanzen zurück. So muß die Moosschicht als ein geschlossener Bestand im Hauptbestand aufgefaßt werden, dessen Stoffproduktion von andern autökologischen Gesetzen ausgeht, als die der darüber entwickelten Vegetationsschichten. Sie wurde deshalb auch in der Berechnung getrennt geführt.

Die Oberfläche des Heidelbeerfichtenwaldes beträgt das 10,15fache der Bestandesfläche; rechnet man die Moose dazu, so kommt man auf das 23,42fache an assimilatorischen Organen gegenüber der verfügbaren Bodenfläche. Für den Leistungsvergleich kommt nur die erste Zahl in Frage. Die wöchentliche Produktionsleistung errechnet sich dann mit 568 g.

3. Der Grauerlenwald am Taleingang.

Überall dort, wo der leichtverwitternde, biotitreiche Verwitterungsboden tiefgründig und stark wasserzügig ist, verdrängt die Grauerle die Fichte. Der Boden ist steinreicher und humusärmer als im Fichtenwald, die Reaktion weniger sauer ($p_H \pm 5{,}6$). Eine eigentliche Baumschicht fehlt, dafür bildet die Erle selbst in meist reinen Beständen eine Strauchschicht von 4—6 m Höhe. Die Feldschicht darunter ist sehr üppig entwickelt und enthält besonders viel großblättrige Kräuter. Die Moosschicht fehlt fast ganz, die ab und zu im Halbdunkel unter den Kräutern hinkriechenden *Mnium-undulatum*-Triebe konnten vernachlässigt werden.

Zur Oberflächenbestimmung wurden 12 m² Erlenholzbestand vollkommen entlaubt und ähnlich wie bei der Fichte dann die Oberfläche der grünen Organe oberhalb eines Quadratmeter Bodens auf dem Umweg über 150 Einzelmessungen und Gesamtwägung bestimmt. Die *Adenostyles*-Blätter zeigten im Mittel 212 cm² Oberfläche, das Maximum war 320 cm². Es fanden sich durchschnittlich 60 ausgewachsene Blätter auf dem Quadratmeter entfaltet. Die Behandlung der übrigen Pflanzen war dieselbe wie in der Fettwiese. *Viola biflora* und *Bellidiastrum*

Tabelle 3. *Vegetationsaufnahme des Alnetum incanae adenostyledosum* (3).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Oberfläche	
		m²	%
Alnus incana-Strauchschicht . . .	4	8,81	79,5
Adenostyles Alliaria	4	1,27	11,5
Struthiopteris germanica	2	0,21	
Mercurialis perennis.	2	0,20	
Chaerophyllum cicutarium	1	0,30	
Carduus Personata	1	0,06	
Impatiens noli tangere	1	0,16	
Senecio Fuchsii.	+	0,03	
Myosotis palustris	+	0,01	
Luzula nemorosa	+	0,01	
Oxalis acetosella	+	0,01	
Viola biflora	+	—	
Bellidiastrum Michelii	+	—	
Feldschicht für sich	5	2,26	20,5
Gesamtoberfläche der grünen Organe von Strauch- und Feldschicht in Quadratmeter je 1 m² Probefläche		11,07	100,0

Michelii erhielten in der folgenden Liste keine Flächenzahl, weil ihre Oberfläche kleiner als 0,01 m² war.

Obwohl es sich hier um einen Laubbuschwald, im vorhergehenden Falle um einen Fichtenhochwald mit ganz anderen Arten handelt, ist das Ausmaß der Oberflächenentwicklung auffallend ähnlich: im Fichtenwald 10,15 m², hier 11,07 m². Im Fichtenwald war das Verhältnis der Oberflächenentwicklung der Baumschicht zur Feld- und Zwergstrauchschicht 77,0:22,9, hier ist es 79,5:20,5! Im Fichtenwald hatte die dominante Feldschichtpflanze 18,2, hier 11,5% der Gesamtoberfläche zu bestreiten. Alle diese Zahlen deuten auf eine ökologisch ähnliche Organisation der systematisch so verschiedenen Gesellschaften, auf die wir später noch zu sprechen kommen werden.

Dem Augeneindruck nach war die Feldschicht dichter deckend als die Baumschicht, was in den Deckungsgraden 5 gegenüber 4 zum Ausdruck kam. Obwohl nun die Blätter beider Schichten hauptsächlich wagrecht lagen, erweist sich, daß die Oberfläche der Baumschicht fast 4mal die der Feldschicht übertraf, wieder ein Hinweis darauf, daß die Schätzung der Deckung trotz Ramienski-Spiegel nur einen unzuverlässigen Einblick in die Machtverhältnisse innerhalb der Arten der Gemeinschaft geben kann.

Die wöchentliche Stoffproduktion errechnet man mit 260 g.

Nach der Untersuchung dieser 3 Pflanzengesellschaften der untersten Höhenstufe, die so ähnliche Werte zeigten, ergab sich die Notwendigkeit,

die Oberflächenentwicklung von Pflanzengemeinschaften anderer Höhenstufen zu prüfen. Die folgenden Aufnahmen entstammen 13 Probeflächen aus Höhen zwischen 2600 und 2950 m.

4. Das Krautweidenschneetälchen der Großweidalm.

Die Schneetälchenvegetation ist ökologisch durch extrem kurze Vegetationszeit, stark durchfeuchteten, nährstoffreichen, sauren (p_H ±4,5) Boden und Feinerdereichtum des Untergrundes ausgezeichnet. Je nach der Kürze der Vegetationszeit ändert sich die Artenzahl und der Anteil der Kryptogamen: Nur bei einer Aperzeit von über 3 Monaten treten die Kryptogamen zurück und lassen einen dichteren Teppich von — mit Ausnahme der Leitpflanze *Salix herbacea* — immergrünen Phanerogamen zu. Ein Schneetälchen dieses Typs wurde zur Untersuchung gewählt. Es ist nur undeutlich zweischichtig, weil die Phanerogamen dem Boden so dicht angedrückt sind, daß die Moose mit ihren Spitzen sie überall erreichen, ja stellenweise überragen. Trotzdem macht der Bestand den Eindruck vorwiegend aus Blütenpflanzen zu bestehen, insbesondere durch die dichte Deckung von *Salix herbacea*. Die Methodik der Oberflächenmessung war dieselbe wie bisher, jedoch sind die Werte von *Anthelia Juratzkana* wegen der dichten Verfilzung mit Pilzmyzel nur ungenau.

Russula wurde nur der Vollständigkeit halber aufgenommen, für Oberflächenberechnungen kommen Pilze natürlich nicht in Betracht;

Tabelle 4. *Vegetationsaufnahme des Salicetum herbaceae* (4).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Oberfläche	
		m²	%
Salix herbacea	5	0,54	42,9
Arenaria biflora	1	0,08	
Soldanella pusilla	2	0,46	
Chrysanthemum alpinum	1	0,04	
Cardamine alpina	+	0,03	
Saxifraga stellaris	+	0,02	
Veronica alpina	+	0,01	
Sibbaldia procumbens	+	0,08	
Blütenpflanzen allein	5	1,26	100,0
Polytrichum sexangulare	4	5,80	460
Orthocaulis Floerkei	+	0,05	
Moerckia Blyttii	+	0,01	
Anthelia Juratzkana	3	(±1,85)	
Bryum spec.	1	2,05	
Russula emetica var. alpina	+	0,00	
Laub- und Lebermoose	4	9,71	770
Gesamtbestand aller Arten		10,97	870

immerhin ist dieser Täubling eine Charakterpflanze der phanerogamenreichen Schneetälchen bis nahe an 3000 m hinauf, gehört also mit in die Artenliste.

Typisch ist die ganz falsche Einschätzung von *Sibbaldia* etwa in Vergleich mit *Chrysanthemum! Sibbaldia* war derart in den Moosrasen eingesenkt, daß man die Blätter erst bei der Artentrennung für die Gewichtsanalyse fand, während *Chrysanthemum* mit seinen fast 15 cm hohen Blütenschäften bei der Schätzung überwertet wurde.

Für den Standartwert „Oberfläche der Blätter der Blütenpflanzen über 1 m² Boden" ergibt sich hier nur 1,26 m², also viel weniger als in jeder der 3 Pflanzengesellschaften der Talstufe. Dagegen ist die Moosschicht ihrer Größenordnung nach mit ihrer Oberfläche der des Fichtenwaldes fast ebenbürtig: hier 9,71 dort 13,27!

Die Gesamtfläche von 10,97 darf natürlich nicht mit der fast gleichlautenden der Blütenpflanzenwerte der tieferen Stufe verglichen werden, sondern höchstens mit der entsprechenden Gesamtfläche des moosreichen Fichtenwaldes (23,42 m²) und bleibt dann — ähnlich wie die Werte für die Blütenpflanzen allein — bedeutend hinter denen der Tal-Lagen zurück.

Die wöchentliche Stoffproduktion errechnet man für die Blütenpflanzen auf nur 71 g; eine Zahl, die unter dem Gesichtspunkt der kurzen Vegetationszeit nicht unmittelbar mit der Produktion der Tal-Lagen verglichen werden darf. Der Jahresdurchschnitt liegt natürlich noch wesentlich niedriger als sie andeutet.

5. Das Silenetum acaulis des Kratzenbergrückens.

Bei der Auswahl der Probeflächen dieser Gesellschaft wurden, um möglichst vergleichbare Werte zu erhalten, Bestände ausgesucht, die auf mehr als 1 m² großer Grundfläche den Boden vollkommen abdeckten. Dieser Fall ist nun bei der Polsterpflanzenflur nicht Regel, sondern Ausnahme. Immerhin gibt es auf flachen Gratstellen zwischen Larmkogel (3022 m) und Kratzenberg (3023 m) genügend Plätze, auf denen sich die ursprünglich einzeln wachsenden Silenepolster zu einem lückenlosen Teppich schließen konnten. Der Höhenunterschied gegen das Schneetälchen war nur 80 m. Der ökologische Unterschied bestand vor allem in der auf dem Gratrücken längeren Aperzeit, der Windausgesetztheit und der zeitenweise auftretenden Austrocknung. Der Anteil an Feinerde war auch hier sehr hoch und das p_H sogar praktisch gleich dem der Schneetälchen. Auch in der Neigung, völlig einschichtige Bestände zu bilden, gleichen sich beide Pflanzengesellschaften. Sie ist sogar in den Sileneteppichen so groß, daß beispielsweise das Edelweiß (*Leontopodium alpinum*), das gelegentlich in diese Teppiche einwandert, eine

Tabelle 5. *Vegetationsaufnahme des Silenetum acaulis* (5).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Oberfläche	
		m²	%
Silene acaulis	3	0,21	15,7
Saxifraga bryoides	2	0,57	
Saxifraga moschata	+	0,03	
Cerastium uniflorum	2	0,40	
Gentiana brachyphylla	1	0,02	
Minuartia verna	+	0,01	
Alsine sedoides	+	0,01	
Polsterpflanzen allein	4	1,05	78,2
Primula glutinosa	2	0,08	
Salix retusa	2	0,12	
Ranunculus glacialis	+	0,03	
Artemisia laxa	+	0,01	
Sesleria disticha	+	0,02	
Poa alpina	+	0,01	
Luzula spicata	+	0,01	
6 Flechtenarten zusammen	2	—	
Übrige Pflanzen	—	0,28	6,1
Gesamte grüne Oberfläche über 1 m² Boden ohne den autotrophen Anteil der Flechten		1,34	100,0

praktisch stengellose Form bildet, so daß seine Blütensterne vollkommen eben in den Nelkenteppich einverwebt sind. Zum Unterschied vom Schneetälchen spielen die Kryptogamen hier kaum eine Rolle. Das Tierleben — sowohl von anfliegenden, wie von in den Polstern lebenden Kleintieren — ist viel reicher als im Schneetälchen. Die Kleinblättrigkeit der beteiligten Blütenpflanzen erinnert stark an die Lebensform der Moose, welche das Schneetälchen durchsetzen. Die Stoffproduktion ist aber trotzdem natürlich viel größer, was schon die mächtig anschwellenden Humuspolster andeuten.

Die mit den Blütenpflanzen zusammenwachsenden Flechten spielen in den geschlossenen Rasen nur eine untergeordnete Rolle, ihr Deckungsgrad wurde angegeben, ihre assimilierende Oberfläche läßt sich nicht bestimmen

Die in der Liste nicht einzeln aufgeführten Flechtenarten waren: *Thamnolia vermicularis*, *Cetraria nivalis*, *cucullata* und *islandica* (f), *Solorina crocea* und *Peltigera malacea*. Der Anteil der Polsterpflanzen fällt ihrer Oberfläche nach stärker ins Gewicht als nach dem physiognomischen Eindruck zu vermuten wäre: Gerade solche geschlossene Teppiche werden von den auffallenden Blättern und Blüten des Speiks (*Primula glutinosa*) und des Eishahnenfußes (*Ranunculus glacialis*) überragt. *Sesleria*, *Poa* und *Luzula*, die weiter unten einen beträchtlichen

Anteil am Oberflächenwert erreichen, wachsen hier in dieser Höhe nur mehr schütter und vereinzelt, so daß sie die Wirkung der kleinblättrigen Polsterpflanzen nicht erreichen können; mit 78,2% der gesamten Oberfläche sind also die Polsterpflanzen die beherrschenden. Auffallend ist, daß die dominierende Pflanze *Silene acaulis* mit 0,21 m² weniger grüne Flächen entwickelt hat als der mit geringerer Deckung verzeichnete Moossteinbrech. Die Ursache liegt vor allem darin, daß die Silene-blättchen (mittlere Blattgröße 2,4 mm²) nur ganz oben am Stamm grün sind, während die Moossteinbrechblättchen (mittlere Fläche 1,98 mm²) viel länger grün bleiben, also im Verhältnis zur Gesamtdeckung zahlreicher sind.

Würde je eine Art dieser Polsterpflanzen für sich allein den ganzen Quadratmeter füllen, so ergäben sich folgende Oberflächen: *Silene acaulis* 2,31 m², *Saxifraga bryoides* 3,80 m², *Cerastium uniflorum* 3,09 m², *Gentiana brachyphylla* 2,25 m².

Diese Messungen zeigen, daß die Polsterpflanzen selbst eine untereinander sehr ähnliche Oberflächenentwicklung haben, während die über sie hinausragenden Pflanzen sehr voneinander abweichen (*Salix retusa* z. B. 3,21 m², *Ranunculus glacialis* 0,30 m²!).

Die gesamte entwickelte Oberfläche beträgt 1,34 m², also — abgesehen wieder vom Anteil der Moose — größenordnungsmäßig einen ganz andern Wert als bei den Pflanzengemeinschaften der Tal-Lagen, aber einen sehr ähnlichen, wie der des nahen Schneetälchens ist (1,26 m²). Dem entsprechend ist auch die Wochenproduktion von 75 g ähnlich; die Zahl hat aber hier wieder eine etwas andere Bedeutung als bei den Schneetälchen, weil die Vegetationszeit länger ist, so daß die effektive Stoffproduktion des Silenetum während eines Jahres wahrscheinlich die des *Salicetum herbaceae* weit übertrifft.

Die nächsten Messungen wurden in der höchsten im Bereich des Habachtales überhaupt noch von Blütenpflanzen beschickten Vegetationsstufe vorgenommen.

6. Das Androsacetum glacialis des Schwarzkopfgrates.

Obwohl der Standort der Mannsschildbestände (2950) nur 300 m höher als der der *Silene*polster war, waren die ökologischen Bedingungen wesentlich ungünstiger. So nahe an der absoluten Vegetationsgrenze bedeuten 300 m naturgemäß mehr als in tieferen Lagen. So konnte ich hier auch keinen geschlossenen Bestand von 1 m² Größe mehr finden, sondern mußte meine Fläche von 1 m² durch Summierung von 14 kleinen Vegetationsflecken unregelmäßiger Begrenzung zusammensetzen. Diese Vegetationsflecken sind in einer südexponierten Steilwand von 50—60° Neigung und etwa 8 ar Ausdehnung verteilt. Die Stelle liegt im Gipfelaufbau des Schwarzkopfes bei 2950 m.

Tabelle 6. *Vegetationsaufnahme des Androsacetum glacialis* (6).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Oberfläche	
		m²	%
Androsace glacialis	4	0,16	35,5
Saxifraga bryoides	3	0,09	
Saxifraga exarata	1	0,02	
Minuartia sedoides	1	0,04	
Polsterpflanzen allein	4	0,31	68,9
Ranunculus glacialis	2	0,04	
Potentilla frigida	1	0,02	
Primula glutinosa	1	0,02	
Erigeron uniflorus	+	0,01	
Trisetum spicatum	+	0,01	
Poa laxa	+	0,01	
Myosotis alpestris	+		
Alchemilla glaberrima	+	0,01	
Pedicularis asplenifolia	+		
Übrige Pflanzen allein	2	0,11	31,1
Gesamte grüne Oberfläche über 1 m² bewachsenem Boden in 2950 m Höhe		0,45	100,0

Das Androsacetum ist eine floristisch sehr scharf durch die straffe Auslese der hier noch möglichen Arten charakterisierte Pflanzengesellschaft, welche aber nur geringe innere soziale Bindungen besitzt. Morphologisch äußert sich dies letztere darin, daß die wenigen hier noch vorkommenden Arten in sehr verschiedenen Kombinationen vorkommen, daß die Homogenität der Bestände gering ist und unter den bestimmenden Faktoren der Wettbewerb vor den mikroklimatischen und edaphischen Einwirkungen zurücktritt. Es handelt sich meist um kleine Felsspalten, geschützte Winkel unter Blöcken und ähnliche Orte. Der dort sich bildende Boden ist dem des Silenetums sehr ähnlich, sowohl der physikalischen Struktur als auch dem p_H ($\pm$ 4,8) nach.

Drei von den hier gefundenen Arten — *Saxifraga bryoides, Ranunculus glacialis* und *Primula glutinosa* — hat das Androsacetum mit dem Silenetum gemeinsam. Die Oberflächenentwicklung dieser gemeinsamen Arten ist aber hier —, besonders wenn man die zum Teil höheren Dekkungsgrade in Betracht zieht — viel geringer. Das liegt weniger an der absoluten Zahl der Blätter, als vielmehr an ihrer noch geringeren Ausdehnung und vor allem an der viel kleineren Zahl von noch *grünen* Blättern im Verhältnis zur großen der bereits chlorophyllfreien.

Die in der Liste nicht angegebenen Kryptogamen waren: *Gymnomitrium concinnatum, Gymnomitrium corallioides, Lophozia alpestris, Cetraria cucullata, Cetraria commixta, Parmelia encausta, Parmelia pubescens, Gyrophora cylindrica, Thamnolia vermicularis.* Die beiden

mikroskopisch kleinen Lebermoose und die Flechten wurden nicht in die Oberflächenbestimmungen einbezogen. Ihre produktionsbiologische Bedeutung ist offenbar sehr gering.

Ähnlich wie im Silenetum überwiegen auch hier die Oberflächen der Polsterpflanzen (68,9%) über die der anderen Lebensformen (31,1%). *Myosotis*, *Alchemilla* und *Pedicularis* waren nur in Spuren und ohne fertile Sprosse zu finden. Die dominierende Polsterpflanze bestreitet allein über ein Drittel der Gesamtoberfläche. Diese ist mit 0,45 rund halb so groß wie im Silenetum und wesentlich kleiner als die aller übrigen Pflanzengesellschaften. Die wöchentliche Stoffproduktion läßt sich mit rund 3 g je Woche und Quadratmeter errechnen.

Setzt man aber als Grundlage für die Berechnung nicht die nachträglich zusammengesetzte Fläche ein, sondern die ganze Fläche, auf der sich der tatsächliche Bewuchs feststellen ließ, so verteilt sich die vermessene grüne Oberfläche auf 800 m^2 und es trifft auf einen Quadratmeter nur mehr 6 cm^2 assimilierende Fläche und nur mehr wenige Milligramm Stoffproduktion.

Ergebnisse aus dem Habachtal.

Die Maßzahlen der grünen Oberflächen der sechs untersuchten alpinen Pflanzengesellschaften erwiesen sich durch ihre jeweils typische Größenordnung als brauchbares, beschreibendes und aufschlußreiches essentielles Vegetationsmerkmal. Ihre Erfassung ist einerseits in möglichst großer Genauigkeit erwünscht, andererseits erzwingt die notwendige Arbeitsökonomie die Beschränkung auf wenige, charakteristische Stichproben, die nach folgendem Grundsatz ausgesucht wurden: Bearbeitet werden jene Pflanzengesellschaften, die für ihre Höhenstufe das Optimum der Lebensleistung, Standortausnutzung und Oberflächenenergie darstellen. Das waren z. B. für die Höhenlage von rund 1000 m drei: Die Fettwiese, der Fichten- und der Erlenwald. Andere Pflanzengesellschaften, wie etwa die Sandvegetation des Baches, die Geröllflur der Erosionshalden oder die Initialflur eines Kahlschlages fielen nicht in den Rahmen dieser Untersuchung, weil sie als vorübergehende Stadien gelten müssen und keinen Maßstab abgeben können für die in dieser Höhenstufe höchstmögliche Produktionsleistung. Innerhalb der drei zur Bearbeitung ausersehenen Vegetationstypen wurden wieder Einzelbestände ausgewählt, die einerseits charakteristisch waren und andererseits auch innerhalb ihres Vegetationstyps noch ein Optimum darstellten. Das Ziel war, die Maxima der in jeder Höhenstufe erreichbaren Oberflächenentfaltung zu fassen und untereinander zu vergleichen.

Einen brauchbaren Maßstab für den wahren Wert der so gewonnenen Oberflächenzahlen gibt die Schwankungsbreite (der mittlere Fehler) der jedesmal bearbeiteten 6 (oder mehr) Probeflächen. Diese Zahl drückt

aber in unserem Falle nicht nur die erreichte Arbeitsgenauigkeit aus, sondern gleichzeitig auch den Grad der Homogenität der untersuchten Bestände in bezug auf die Oberflächenentwicklung. In der folgenden Tabelle 7 entstammen die Assoziationen 1—3 und 4—5 jeweils derselben Höhenstufe. Die Oberflächenunterschiede zwischen Gesellschaften derselben Höhenstufe liegen in der Größenordnung der Fehlerschwankung, während die verschiedener Höhenstufe Oberflächendifferenzen von 78% zeigen, Unterschiede, die den möglichen Fehler von höchstens 13,4% weit übertreffen. „N" der Tabelle 7 ist die mittlere Nettoassimilationsrate in Gramm je Woche, berechnet aus den Oberflächenzahlen und der (s. S. 2) Durchschnittsrate von 56 g/m² Blattfläche.

Tabelle 7.

Pflanzengesellschaft	Höhenstufe	Grüne Oberfläche in m² über 1 m² Boden	Mittlere Fehler absolut m²	Mittlere Fehler relativ %	N g
1. Arrhenatheretum elatioris	I (1000 bis 1050 m)	11,55	± 0,74	± 6,4	647
2. Piceetum myrtillosum		10,15	± 0,48	± 4,7	568
3. Alnetum adenostylidosum		11,07	± 1,48	± 13,4	620
4. Salicetum herbaceae	II (2600 bis 2680 m)	1,26	± 0,03	± 2,1	71
5. Silenetum acaulis		1,34	± 0,03	± 2,5	75
6. Androsacetum glacialis	III (2950 m)	0,45	—	—	3

Damit ergibt sich folgende Zusammenfassung:

1. *Optimale Bestände gleicher Höhenstufe* (Fettwiese, Fichtenwald, Erlenwald einerseits, Schneetälchen, Polsterpflanzenflur andererseits) *entwickeln größenordnungsmäßig gleiche Blattflächen*, und zwar trotz großer floristischer Unterschiede, verschiedener Lebensformen und verschiedener menschlicher Beeinflussung.

2. *Die Oberflächenausdehnung der assimilierenden Organe nimmt in den optimalen Beständen mit der Meereshöhe ab.* Höhenstufe I: 10,15—11,55 m², Höhenstufe II: 1,26—1,34 m², Höhenstufe III: 0,45 m².

3. Die Oberflächenentfaltung von Moosteppichen aus 2 Höhenstufen zeigten die bei den Blütenpflanzen so augenfälligen Unterschiede *nicht.* Bei der für die Moosvegetation verhältnismäßig hohen Fehlerschwankung von ± 17% fällt der Unterschied zwischen Fichtenwaldmoosdecke und Schneetälchenmoosdecke (13,27 bzw. 9,71 m²) nicht stark ins Gewicht. Es erscheint wahrscheinlich, daß die optimal entwickelten *Moosflächen in bezug auf ihre Oberflächenausdehnung viel weniger von der Meereshöhe abhängen als die Bestände aus höheren Pflanzen.*

4. Wo eine deutliche Baumschicht entwickelt war, also im Fichten- und Erlenwald, war trotz der sonst verschiedenen Gesellschafts-

morphologie das *Verhältnis von Baumschicht zur Untervegetation nahezu gleich:* 77:23% bzw. 79:20%. Auch absolut gerechnet war die Oberflächenenergie der beiden verschiedenen Kronenschichten sehr ähnlich: 7,82 m² bzw. 8,81 m². Wo eine Moosschicht bestand, übertraf sie die übrigen Schichten (als 100% gerechnet) weitaus: 131% im Fichtenwald, 770% im Schneetälchen.

5. Nimmt man nach der angeführten Literatur eine größenordnungsmäßig konstante mittlere wöchentliche Nettoassimilationsmenge von ± 56 g je Quadratmeter grüner Blattfläche an, so ergeben sich die Werte der letzten Spalte unserer Tabelle. Der absolute Wert dieser Zahlen ist jedoch fraglich. Sie erscheinen vor allem in Vergleich zu den in der Literatur (s. S. 2) vorliegenden Meßergebnissen sehr hoch. So errechnet sich für die Pflanzengemeinschaften unserer untersten Höhenstufe ein Durchschnittswert von 612 g[1]. Nun stammen aber alle diese Zahlen aus Monokulturen ohne Berücksichtigung der Leistung der begleitenden Unkrautflora oder — falls eine solche gefehlt haben sollte — ohne volle Ausnutzung des gegebenen Lebensraumes. *Es ist durchaus denkbar, daß natürliche Pflanzengesellschaften mit ihrer reichen Abstufung von teilnehmenden Lebensformen, die eine bessere Ausnutzung der Standortsbedingungen gestatten, höhere Gesamtleistungen erzielen als einseitig ausgerichtete Monokulturen.* Andererseits dürfte aber gerade der scharfe Wettbewerb in unseren Beständen die gleichmäßige Assimilationsleistung aller verfügbaren Blattflächen verhindern. Trotz dieser Unsicherheit des absoluten Wertes der Leistungsangaben ist ihr relativer Unterschied deutlich genug, um die Eigenart der Ökologie der untersuchten Verbände zu unterstreichen. *Mit zunehmender Annäherung an die absolute Vegetationsgrenze wird die assimilatorische Leistung, berechnet nach den entfalteten Blattflächen, verschwindend gering* (1000 m ~ 612 g, 2600 m ~ 73 g, 2950 m ~ 3 g).

Faßt man die europäische, besonders aber die alpine Vegetation als genetisch wie ökologisch abgeleiteten Typus auf, so erscheint es wesentlich die Fragestellung nach der Oberflächenentwicklung von Pflanzengemeinschaften an der unter den optimalen Bedingungen der Tropen und Subtropen entwickelten Vegetationsfülle zu erproben.

II. Teil: Untersuchungen im Gebiet der Küstenkordillere von Venezuela.

1. Erd- und vegetationskundlicher Überblick.

Wenn irgendwo, dann hat man im Gebiet der nordvenezolanischen Küstenkordillere das Gefühl, Wolken gehörten nicht dem wetter-

[1] *Anmerkung der Redaktion.* Die Angaben auf S. 2 enthalten nichts über Stoffproduktion auf 1 m² *Boden*fläche. Nach KALLE (1948) produziert 1 m² Zuckerrübenfeld 920 g, 1 m² Heuwiese 360 g organischer Substanz im Jahr!

wendischen Himmel, sondern gleichsam der Geologie an: So dauerhaft überschichten sie den bis 2765 m hohen Gebirgszug. Von woher man ihn auch sieht, vom karibischen Meer oder vom Landesinnern her, immer bildet diese Einheit von Berg und Wasserdampf den alltäglichen Landschaftshintergrund. Wenn doch einmal der Wolkenschleier zerreißt, erkennt man schon von weitem die beiden bezeichnendsten Vegetationsstufen: Im untern Teil die heiße, steile Bergsabana, in der Regenzeit hellgrün, in der Trockenzeit ockerfarben; und darüber in schier unerschöpflichen Abschattungen von Grün den Wald- und Buschgürtel, den auch die höchsten Gipfel nicht überragen. Diese obere Stufe besteht aus einer erstaunlichen Fülle von Pflanzengesellschaften, deren Eigenart bald durch Höhenlage und Feuchtigkeit, bald durch den wechselnden Formenbestand der in Schluchten (Quebradas) und Rippen (Estribos) gegliederten Hänge, schließlich aber auch durch verschiedenen Grad der Schädigung durch den Menschen bestimmt ist. Hier gibt es außer Pflanzengemeinschaften, die man als Übergangserscheinungen von Sabana und Busch betrachten kann (z. B. *Oyedea verbesinoides*-Busch), auch alle Übergänge von sekundärem, nach Brand, Rodung oder Bepflanzung neu erwachsenen Wald zu echtem Urwald. Nach meinen Untersuchungen im Sillagebiet und den Nachrichten über die dort in historischer Zeit erfolgten Rodungen gibt es ein gutes Unterscheidungsmittel zwischen Ur- und Sekundärwald: Der letztere ist von einer dichten Decke wuchernder Lianen förmlich überworfen, so daß Bäume und Lücken schon von weitem zu sehen sind, obwohl sie unter dem grünen Faltenwurf bleiben. Auch der echte Urwald besitzt Lianen, sie entfalten aber *in* ihm ihre größte Laubmasse nicht *über* der Kronenschicht, sondern *in* ihr und *unter* ihr. In der Nähe der Städte ist dieser Urwald auf wenige Reste, meist am Grunde alter Erosionstäler, beschränkt. Wo ein im Dickicht verborgener Wasserlauf ist, verrät er sich in dieser Vegetationsdecke schon von weitem durch die rostbraunen Wipfel der an solchen Stellen dominierenden Holzart *Guarea fulgens*, die in Sekundärwäldern fast immer fehlt. Neben diesem subtropischen „Quebrada-Urwald" findet sich in den feuchtesten Lagen im Staat Aragua noch der hier „*selva nublada*" genannte, subtropische Bergwald. Die schönsten und ursprünglichsten Bestände davon sind uns im venezolanischen Nationalpark im Gebiet von Rancho Grande[1] erhalten. Die höchsten Grate der Küstenkordillere sind meist waldfrei, wenn auch immer noch von dichtem, 1—4 m hohem Buschwerk bestanden. Dieses Buschwerk ist ebenfalls sehr vielgestaltig, eindeutig durch die hervorstechendste

[1] Rancho Grande ist ein Regierungsbau inmitten des Nationalparks. Dr. Ernst Schäfer leitet dort die neugegründete biologische Station, die nach ihrer Lage im Zentrum eines der unberührtesten und großartigsten Waldgebiete Venezuelas dazu bestimmt erscheint, Ausgangspunkt für tropische und subtropische Biocoenosenforschung zu werden.

Leitpflanze, *Espeletia neriifolia*, beherrscht. Die hier angedeuteten Vegetationsstufen sind im folgenden durch bezeichnende Bestände vertreten, deren Vegetationsbeschreibung wieder durch die Messung der entwickelten grünen Oberflächen ergänzt ist. Dabei ist außer den Studien aus Aragua (Abb. 1, Gebiet 5) das Hauptgewicht auf die Südhänge der Silla de Caracas (Abb. 1, Gebiet 1—4) verlegt. Dieser Berg ist nicht nur als Wahrzeichen der venezolanischen Hauptstadt Caracas, die an seinem Südfuß liegt, bekannt, sondern vor allem auch in der Geschichte der Wissenschaft durch die Erstbesteigung HUMBOLDTs (1816 bzw. 1941), des Begründers der modernen Pflanzengeographie, berühmt geworden. So war gerade dieses Gebiet außer seiner sachlichen Eignung — es vertritt einen weitverbreiteten Typus der Küstenkordillere — als für den Botaniker klassischer Boden gleichzeitig anziehend und verpflichtend. Da es im Bereich der Silla weder Wege noch Unterkunftsmöglichkeiten gibt, da weiter die Durchquerung der heißen Sabana untertags wenig Kräfte mehr für die Arbeiten in den oberen Stufen übrig läßt, haben wir den Großteil unserer Sillabesteigungen nachts durchgeführt, untertags in der Wald- und Buschstufe gearbeitet und sind in der folgenden Nacht wieder abgestiegen. Zur Ergänzung dieser Arbeiten wurde auch ein Futtergrasbestand — entsprechend der Fettwiese aus dem Habachtal — in der Höhe von Caracas aufgenommen.

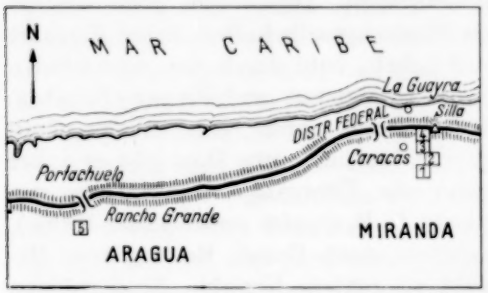


Abb. 1. Übersichtskarte der Lage der Probeflächen an den Südhängen der Küstenkordillere von Nord-Venezuela. Eingezeichnet Küste und Gebirgszug. 1—4 Profil der Silla de Caracas, 5 Probefläche im Nationalpark.

Die Arbeitsweise war grundsätzlich dieselbe wie in den Alpen, schon um vergleichbare Werte zu gewinnen. Auch hier wurden im Rahmen der jeweiligen Höhenstufe bezeichnende Assoziationen und im Bereich der Assoziationen optimale Bestände (d. h. solche mit der augenfällig üppigsten Laubmasse) ausgewählt und je mindestens 6 Probeflächen zu 1 m² untersucht. Dabei war es oft notwendig die einzelnen Vegetationsschichten für sich zu behandeln und für die Bemessung der Blattfläche der Kronenschicht größere Bäume zu fällen. Im einzelnen wurden folgende Bestände bearbeitet:

Im Gebiet der Silla (Staat Miranda):

1. *Panicetum maximi* (Montegrasbestand) 1000 m ü. M.
2. *Paspaletum Humboldtiani* (Untere Bergsabana) 1160 m ü. M.

3. Guareetum fulgentis (Quebradawald) 1600 m ü. M.

4. Espeletietum neriifoliae (Gratbusch) 2630 m ü. M.

Im Parque National, Rancho Grande (Staat Aragua):

5. Selva nublada (Wolkenwald, Leitpflanze *Gyranthera caribensis*) 950 m ü. M.

Im letzten Fall wurde statt der Aufstellung und Benennung als neue Assoziation der von den einheimischen Forschern gebrauchte Ausdruck verwendet. Der Grund dafür ist die Eigenart dieser Vegetation (ungeheuer große Artenzahl, keine ausgesprochen dominanten Arten, großes Minimiareal), welche dem Bearbeiter vielfach neue, von den europäischen pflanzensoziologischen Verfahren abweichende Erkenntniswege aufzwingt.

2. Beschreibung und Oberflächenbestimmung einiger wichtiger Vegetationstypen.

1. Montegrasbestand bei Caracas.

Die Montegrasbestände der Umgebung von Caracas gehören einem höchst eigenartigen Wiesentyp an. Leitpflanze und unbedingte Dominante desselben ist die „*Yerba guinea*" der Einheimischen, das übermannshohe *Panicum maximum*, oft auch nur „Montegras" genannt. Es wurde einst aus Afrika eingeführt, dann auf dem Boden der Haziendas als erstklassiges Futtergras gebaut und wuchert heute als Zeuge der im Weichbild der schnell wachsenden Großstadt inzwischen versunkenen Landwirtschaft weiter fort. Während nun dieses Montegras in andern Teilen Süd- und Nordamerikas als Bestandteil artenreicher Wiesentypen vorkommt (Roseveare 1948), beherrscht es hier als eine der unduldsamsten Arten, die ich bisher in Venezuela beobachten konnte, derart seinen Standort, daß es praktisch „Einartgesellschaften" bildet, in denen die gelegentlich eingestreuten Kümmerformen von Begleitpflanzen keine Rolle im Gesellschaftshaushalt spielen. Der Boden dieser Bestände erscheint kalkarm, eisenreich, bis tief hinab angewittert und — heute — offensichtlich nährstoffarm. Von außen gesehen erscheinen die Bestände hellgrün, stechen auch im Luftbild zu Beginn der Trockenheit durch diesen Farbton gegenüber der Umgebung hervor, sind aber im Innern der Einzelbüschel auch in der Regenzeit chlorophyllarm und vergilbt. Die einzelnen Blätter an den ± 2 m hohen Halmen sind meist über 50 cm lang und 2—3 (—4) cm breit. Offensichtlich also ein dichtes, riesenhaftes Gras, das an Üppigkeit europäische Fettwiesentypen weit zu übertreffen scheint.

Die folgende Vegetationsaufnahme stammt aus der Vorstadt Sebucan. Der Standort derselben bildet gleichzeitig auch den Fußpunkt des Profils von Vegetationsproben, das von hier aus durch alle Vegetationsgürtel bis zur Spitze der Silla gelegt wurde.

Tabelle 8. *Vegetationsaufnahme des Panicetum maximi* (2).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Frequenz %	Oberfläche m²/m²	Oberfläche %
Panicum maximum Jaqu.[1]	5	100	0,950	99
Melinis minutiflora Beauv.	+ —1	14	0,002	
Setaria geniculata Beauv.	+	7	—	
Leptochloa domingensis Trin. . . .	+	7	—	
Cyperus cayennensis Britt.	+	14	0,001	
Chamaecrista calycioides Britt. . . .	+	66	—	
Polygala columbica Chod.	+	7	—	
Borreria suaveolens Mey.	+	7	—	
Emilia sagittata DC.	+	7	—	
Rhynchosia spec.	1	7	0,002	
Bidens pilosa L.	+	66	0,001	
Bidens pil.-minor Sh.	1	50	0,004	
Sclerocarpus coffeaecolus Kl.	+	14	—	
Begleitpflanzen	+		0,010	1
Gesamtoberfläche der grünen Organe in m²/1 m² Probefläche			0,960	100

Die überragende Bedeutung des *Panicum maximum* für diese Bestände geht deutlich aus der Tabelle 8 hervor. Als Begleiter sind durchwegs weitverbreitete Ruderalpflanzen und Kulturfolger vorhanden. Verglichen mit der alpinen Fettwiese überrascht die trotz des üppigen Eindrucks geringe Oberflächenentwicklung. Sie schwankt auch in den einzelnen Quadraten nur sehr wenig.

Oberfläche, Quadrat Nr. 1: 0,98 m²; 2: 1,01 m²; 3: 0,71 m²; 4: 1,18 m²; 5: 0,65 m²; 6: 1,17 m².

Mittel: 0,95; mittlerer Fehler (Schwankungsbreite) = ± 0,09. Die Messungen wurden zur Zeit der maximalen Blattentfaltung vorgenommen, so daß der Jahresdurchschnitt sicher noch weit unter den vermessenen grünen Oberflächen liegt.

2. Untere Bergsabana.

Die Bergsabana, der Grassteppengürtel am Fuß der Silla, zerfällt in 2 Höhenstufen: Die untere und die obere Bergsabana. Beide unterscheiden sich weniger ihrem Habitus nach, als vielmehr durch die floristische Eigenart, die sich erst der Vegetationsanalyse erschließt. Für die untere Stufe sind unter anderem charakteristisch: *Sabadilla officinalis*

[1] Alle im amerikanischen Teil der Arbeit erwähnten Pflanzen sind mit Autorennamen versehen, eine Maßnahme, die im 1. Teil wegen der weitgehenden Stabilisierung der Namengebung in Europa nicht nötig war. F % ist die „Frequenz", die Zahlen dieser Reihe geben die Prozente der Probeflächen in denen die betreffende Art notiert wurde. „—" tritt an die Stelle der Oberflächenangabe, wenn die betreffende Pflanze weniger als 0,001 m² grüne Oberflächen entwickelte, der Betrag wurde dann vernachlässigt.

Br. und Ra., *Fourcroya humboldtiana* Trel., *Dichromena ciliata* Vahl. Für die obere: *Orthosanthus chimboracensis* Bak., *Vaccinium caracasanum* H. B. K., *Befaria ledifolia* H. und B., *Arctophyllum caracasanum* Stanl. Die Grenze zwischen beiden Sabanastufen ist fließend, sie liegt bei ± 1660 m.

In jeder Stufe kommen mehrere Assoziationen in einem nach dem Grad der Trockenheit, nach dem Grad der Rückverwandlung in Wald und habituell nach dem Anteil an Gebüschen reich abgestuften Mosaik vor.

Das hier gewählte *Paspaletum Humboldtiani* ist durch trockene Lagen, durch homogene, gebüschlose Struktur und die fast ausschließlich das Lebensformenbild beherrschenden Gräser gekennzeichnet. Von diesen empfiehlt sich das „Humboldtgras" deshalb als Namensträger der Assoziation, weil es eine der 3 Dominanten ist und zudem im Gebiet des Profils nur in dieser Pflanzengesellschaft so stark vertreten ist. Der Boden ist tiefgründig verwittert, nährstoffarm, leicht austrocknend und schwach sauer. Eine Schichtung innerhalb des Bestandes fehlt. Der Wechsel zwischen der reicheren Begrünung der Regenzeit und der völligen Dürre der Trockenzeit ist noch durchgreifender als in der vorigen Gesellschaft. Der beschriebene Bestand liegt oberhalb Sebucan in 1160 m ü. M. auf schwach geneigtem Südhang. Es wurden 9 Probeflächen abgeerntet und vermessen. Die mittlere Schwankung ihrer Oberflächenentwicklung war ± 0,11 m².

Tabelle 9. *Vegetationsaufnahme des Paspaletum Humboldtiani* (3).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Frequenz %	Grüne Oberfläche m²/m²	Grüne Oberfläche %
Paspalum Humboldtianum Flügge	4	100	0,170	51
Andropogon condensatus H. B. K.	4	100	0,150	
Trachypogon ligularis Nees	3	86	0,148	
Aristida recurvata H. B. K.	2	73	0,122	
Melinis minutiflora Beauv.	1	7	0,010	
Paspalum stellatum H. und B.	+	13	0,080	
Andropogon tener Kunth	+ –2	40	0,080	
Andropogon Sellowianus Hack.	+	7	0,010	
Gramineen allein	5	100	0,770	85
Bulbostylis junciformis Kunth	+	40	0,005	
Fimbristylis spec.	+	7	0,004	
Bletia tuberosa Ames	+	7	0,030	
Eupatorium amygdalinum Lam.	+	20	0,050	
Eupatorium bellotaefolium H. B. K.	+	7	0,025	
Achyrocline satureioides DC.	+	33	0,016	
Aneimia flexuosa Sw.	+	7	0,006	
Übrige Pflanzen	+	—	0,136	15
Gesamte grüne Oberfläche über 1 m² Boden			0,906	100

Der Vergleich der Deckungsgrade und Oberflächenzahlen zeigt die Beherrschung des Bestandes durch die Lebensform der Gräser. Trotzdem es sich dabei um schmälere und zahlreichere Spreiten handelt, erreicht der Bestand bei weitem nicht die Leistungen alpiner Fettwiesen. Das liegt außer an der geringeren Zahl der Blätter auch an der selbst in der Regenzeit nur teilweisen Begrünung. Die Gesamtoberfläche des Bestandes stimmt größenordnungsmäßig mit dem *Panicum*-Bestand überein.

3. Quebradawald.

Steigt man vom Standort unseres Paspaletums aufwärts, so bleibt man auf dem Boden der Estribos (Gratrippen) im Bereich der Sabana, während in den Quebradas (Gehängeschluchten) der Wald immer breiteren Raum einnimmt. Als Übergangsvegetation zwischen Sabana und Wald treten Buschzonen auf, in denen *Oyedaea verbesinoides* DC. vorherrscht. Aus der Höhenlage der üppigsten Entfaltung dieses Waldes unmittelbar an den Ufern des Rio Tócome stammt die folgende Probeflächenreihe. Während die floristische Zusammensetzung des Waldes auf kleinem Raum bereits stark wechselt, ist trotzdem die Oberflächenenergie sehr gleichförmig. Immer ist die unterste Vegetationsschicht schütter entwickelt, bald von einem Farn (*Blechnum occidentale* L.), bald von einer Graminee (*Oplismenus hirtellus* Beauv.) beherrscht, während die Staudenschicht (1—5 m) von großblättrigen stark beschattenden, aber den Oberflächen nach zurücktretenden Pflanzen gebildet wird und die eigentlich ausschlaggebende Vegetationsfülle in den verschiedenen Kronenschichten der Bäume einschließlich ihrer Lianen und Epiphyten entwickelt ist. Manchmal alternieren die Schichten etwas, so daß, wo die Baumschicht besonders dicht ist, die Stauden- und Feldschicht zurücktritt und umgekehrt. Diese Verschiebung der Mengenverhältnisse kommt in den stark wechselnden Werten der Frequenz zum Ausdruck. Trotz dieser Verschiedenheiten scheint die Summe der Vegetationsfülle je Flächeneinheit auf weite Strecken hin nur wenig zu schwanken. Die wichtigsten Vertreter der Baumschicht *Guarea*, *Eugenia* und *Cissampelos* wurden gefällt und größere Flächen ihrer Kronen genau vermessen

Das Bodenprofil beginnt mit einer dünnen, mulmigen Humusschicht, unter der ohne die Rostfärbung der Sabana-Böden derselben Höhenstufe der durch Verwitterung weniger physikalisch als chemisch aufgeschlossene steinreiche Rohboden liegt. Die Reaktion ist schwach alkalisch, mit p_H 6,8—7,4. Die ausgesprochene jahreszeitliche Periodizität in der Laubentwicklung fehlt hier völlig. Das Mikroklima ist viel ausgeglichener als dort in der ariden Bergsabana. So betrug an einem typischen Tag der Regenzeit die Schwankung der Verdunstung (gemessen mit Mitscherlich-Evaporimeter) zwischen 30 und 70 μ je Stunde, während sie gleich-

Tabelle 10. *Vegetationsaufnahme des Guareetum fulgentis* (4).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Frequenz %	Grüne Oberfläche m^2/m^2	Grüne Oberfläche %
Guarea fulgens Karst.	4	27	0,83	13
Eugenia columbiensis Berg.	4	13	3,12	51
Cissampelos Pareira L.	2	7	0,47	8
Kronen- und Lianenschicht für sich	4		4,42	72
Staudenschicht: Renealmia exaltata L. f.	4	7	0,81	13
Oplismenus hirtellus Beauv.	1	87	0,79	13
Rhynchospora polyphylla Vahl . . .	+	20	0,02	
Cyperus inhonestans Boeckl.	+	13	0,01	
Elaphoglossum tectum Moore . . .	+	7	0,01	
Blechnum occidentale L.	1	80	0,03	
Selaginella pallescens Spring	+	7	0,02	
Xanthosoma atrovirens Koch . . .	1	7	0,07	
Feldschicht für sich allein	2		0,95	15
Gesamte grüne Oberfläche über 1 m^2 Boden			6,18	100

zeitig in der Bergsabana nur 150 m weiter westlich zwischen 40 und 280 μ je Stunde lag. In der Trockenzeit ist dieser Unterschied noch nicht vermessen worden, dürfte dann aber natürlich noch krasser sein.

Rund $^3/_4$ der Oberflächenleistung gibt die Kronenschicht, was ja auch für den europäischen Wald mehr oder weniger zutrifft. Gegenüber den vorher untersuchten Wiesen- und Sabanatypen tieferer Lagen zeigt der Wald einen deutlichen Zuwachs an assimilierenden Flächen.

4. Der Gratbusch.

Wer beim Anblick der bis zum Gipfel begrünten Küstenkordillere an die kahlen und beschneiten Hochlagen der Alpen denkt, vermag es kaum zu fassen, daß er vor einem fast 3000 m hohen Gebirge steht. Der Eindruck, es handle sich um einen bis zur Gratzone bewaldeten Höhenzug, verschwindet erst, wenn man ihn ersteigt. Der oberste Vegetationsgürtel ist nicht Wald, sondern mannshoher Busch. Die Charakterpflanze dieses Busches ist die Komposite *Espeletia neriifolia* (Abb. 3). Sie taucht zunächst als einzeln wachsender Zwergbaum von höchstens 3 m Höhe in den obersten Sabanaflecken auf. Ihre unten silberweißen Blätter, die gelblichen Blüten, der knorrige mit Lebermoosen und Flechten bewachsene Stamm und der von Pflanze zu Pflanze eigenwillig wechselnde Wuchs machen die Begegnung mit dieser Espeletia zu einem unvergeßlichen Erlebnis. Auf dem Gipfel der Silla selbst und auch auf dem Gratzug, der ihn mit dem Pico de Avila verbindet, bildet sie einen wichtigen Bestandteil der Vegetation. Dabei ordnet sie sich

vollkommen in das bambusillo[1]-reiche Vegetationsmosaik ein, in dem sie Strauchform statt Zwergbaumform annimmt. Es gibt im Bereich des Grates mindestens 3 Varianten der durch sie beherrschten Assoziation; es sind dies, beginnend mit der üppigsten und feuchtesten: *1. Espeletietum chusqueosum* mit reichlichem Anteil an „Bambusillo"[1], *2. Espeletietum pteridiosum* mit viel *Pteridium peltatum* — und *3. Espele-*

Abb. 2. Grenze zwischen Sabana (mit Fourcroya Humboldtiana und Pteris peltata) und Quebradawald (phot. Verf.).

tietum nanum, in dem *Espeletia* Zwergstrauchform annimmt, die Begleiter am stärksten zurücktreten und der Boden stellenweise nur von einer Krustenflechte überzogen ist.

Für unsere Vegetationsaufnahme und die Oberflächenbestimmung kam vor allem die erste Variante — als die üppigste dieser Höhenstufe — in Betracht. Abb. 4 zeigt — senkrecht von oben aufgenommen — das Blattmosaik dieses Gratbusches. Es bedeuten: *E Espeletia neriifolia, C Chusquea spec., M Monochaetum Humboldtianum, S Satureia discolor.*

Der Wettbewerb zwischen diesen Pflanzen scheint sehr scharf zu sein, da keine Trennung in Schichten den Konkurrenzkampf auf verschiedene Raumstufen verteilt. Für die hohe Luftfeuchtigkeit sprechen

[1] Bambusillo ist ein Volksname für untermannshohe Bambusgebüsche.

Abb. 3. Espeletia neriifolia, der Charakterzwergbaum der obersten Zone der Silla de Caracas (phot. Verf.).

Abb. 4. Teil einer Probefläche auf dem Grat der Silla; Vegetationsmosaik von oben aufgenommen. *E* Espeletia neriifolia, *C* Chusquea spec., *M* Monochaetum Humboldtianum, *S* Satureia discolor (phot. Verf.).

Tabelle 11. *Vegetationsaufnahme des Espeletietum chusqueosum* (5).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Frequenz %	Grüne Oberfläche m²/m²	Grüne Oberfläche %
Espeletia neriifolia (H.B.K.) Sch.-Bip.	3	80	2,880	35
Chusquea cf. Spencei Ernst	4	95	1,625	
Arthrostylidium cf. subpectinatum Ktze.	3	24	0,292	
Bambuseae (Bambusillo), beide Arten zusammen			1,917	23
Satureia discolor (H.B.K.) Briq. . .	2	40	2,617	32
Vaccinium caracasanum H.B.K. . .	2	18	0,270	
Gaultheria cordifolia H.B.K.	1	12	0,010	
Monochaetum Humboldtianum Hook.	2	40	0,145	
Byrsonima crassifolia H.B.K. . . .	1	15	0,173	
Stevia lucida Lag.	1	30	0,041	
Sphacele salviaefolia (H.B.K.) Benth.	1	15	0,082	
Castilleja fissifolia L. f.	+	5	0,001	
Pteridium caudatum Max.	2	36	0,080	
Polypodium percussum Cav.	1	2	0,002	
Übrige Pflanzen zusammen			3,421	42
Gesamte grüne Oberfläche in m² über 1 m² Boden			8,218	100

die reichlichen Behänge von Lebermoosen an alten Stämmchen und an den Felsblöcken, die allenthalben eingestreut sind. Der Boden ist grobsteinig und humusreich, die Reaktion schwach sauer.

Für die Oberflächenbestimmungen wurden 6 Probeflächen vollkommen abgeerntet und vermessen.

Daß die Namen HUMBOLDTs und seiner Mitarbeiter in der kleinen Artenliste des Sillagipfels 7mal als Autoren- oder Artbezeichnung auftauchen, erinnert daran, daß wir in dieser Vegetation ein lebendes Denkmal klassischer Naturforschung vor uns haben. Die beiden nicht endgültig bestimmbaren Gramineen wieder mahnen daran, daß die venezolanische Bambuseenbearbeitung noch aussteht und auch in rein systematischer Hinsicht noch große Aufgaben zu bewältigen sind. Im vegetationskundlichen Aufbau zeigt diese Pflanzengesellschaft Ähnlichkeit mit dem Aufbau alpiner Gesellschaften: Wenige, aber deutlich führende Dominanten, die gleichzeitig hohe Frequenzgrade erreichen, starke Oberflächenentwicklung des ganzen Bestandes, und Hervortreten von ihrem Deckungsgrad nach schwachen aber sehr oberflächenaktiven Arten (z. B. *Satureia discolor* mit Deckungsgrad 2 und 2,617 m² gegenüber Chusquea mit Deckungsgrad 4 aber nur 1,625 m²). All dies kennen wir von alpinen Zwergstrauchgesellschaften, während wir es in der typisch optimalen Tropenvegetation vergeblich suchen werden.

Unser Vegetationsprofil des Südhanges der Küstenkordillere bei Caracas vertritt den Typus der Höhenstufen in einem vom Menschen

stark beeinflußten und klimatisch für den Pflanzenwuchs durchaus nicht optimalen Teil des Gebirges. Nun gibt es im Bereich der venezolanischen Küstenkordillere aber auch Gebiete, deren Klima den Pflanzen eine wahrhaft optimale Umwelt schafft. Das großartigste in dieser Richtung ist uns im „Wolkenwald" von Rancho Grande im venezolanischen Nationalpark erhalten.

5. Selva nublada.

Der venezolanische Name „*Selva nublada*" (Wolkenwald) trifft das Richtige: Das Gebiet von Rancho Grande liegt in einem fast dauernd von Wolken umbrauten Paßgebiet der Kordillere, mit eigenartigen Umweltbedingungen. Die Mitteltemperatur schwankt in ganz geringen Grenzen und liegt mit 18,9° (Beebe 1948) nahe dem für Schattenpflanzen mit reichlicher Kohlensäureversorgung gültigen Assimilationsoptimum der Temperatur (Lundegårdh 1924, 1930). Die relative Luftfeuchtigkeit schwankt ebenfalls nur wenig um den von Beebe bestimmten Mittelwert von 92,4%. Der scharfe Unterschied zwischen Trocken- und Regenzeit, der stellenweise bestimmend für das Pflanzenleben der Küstenkordillere ist, fällt hier fort; es ist das ganze Jahr hindurch gleichmäßig feucht und mäßig warm, so daß die Vegetation wahrhaft ideale Bedingungen vorfindet. Dazu kommt noch, daß es sich um echten Urwald handelt, eine Vegetation, die auch in Mittelamerika und im nördlichen Venezuela schon zu den seltenen Ausnahmen gehört. Nach alledem dürfen wir hier wirklich ein Maximum an Wuchs, Umweltausnützung und assimilatorischer Leistung erwarten.

Die Erforschung der Vegetationseinheiten des Wolkenwaldes ist eine Aufgabe der Zukunft. Unsere 9 Probeflächen zu 1 m² sind Stichproben, wie viereckige Vegetationssäulen aus dem riesigen Waldaufbau herausgeschnitten, Proben, welche zur Schilderung der Vegetation nicht hinreichen, sondern nur einen Maßstab der Oberflächenentwicklung zu geben haben. Das Ausmaß der untersuchten Fläche liegt weit unter dem Minimiareal, so daß die 19 Arten unserer Aufnahme nur vegetationssystematisch unzureichende Bestandesausschnitte wiedergeben. Dagegen stellen diese selben Flächen unabhängig von ihrer floristischen Ausstattung wegen ihrer erstaunlich einheitlichen Gesamtbelaubung einen für die Beurteilung der Oberflächen ausreichenden Komplex dar. Es zeigte sich nämlich, daß die mittlere Schwankung der untersuchten 9 Flächen nur 0,35 m² betrug, während der Unterschied gegenüber den grünen Oberflächen anderer Pflanzengemeinschaften Venezuelas weit größer ist als dieser „mittlere Fehler".

In Abb. 5 ist ein typischer Einblick in die *Selva nublada* dargestellt. Die meisten photographischen Wiedergaben von „Urwaldvegetation" sind deshalb irreführend, weil sie den Wald von außen, also nicht den inneren Aufbau, sondern den des Waldrandes zeigen. Im Waldinnern ist die

Laubfülle, besonders in den unteren Vegetationsschichten, lange nicht so dicht, wie am Waldrand, der neben dem Licht von oben noch volles Vorderlicht zur Verfügung hat. Außer dem typischen Pflanzenwuchs zeigt die ausgezeichnete Aufnahme, die ich Herrn WALDEGG, Caracas, verdanke, auch die typische Atmosphäre des Wolkenwaldes. Der Nebel

Abb. 5. Typischer Ausschnitt des „Wolkenwaldes" von Rancho Grande. Oberste Kronenschicht im Nebel, Mittelschicht mit Iriartea, Sokratea und Rubiaceen erkennbar, daneben rechts unten Wedel von Helminthea. Das Bild gibt besonders die Blattarmut der Mittelschichten des Waldes gut wieder und zeigt die typisch nebelfeuchte Atmosphäre (phot. WALDEGG).

verbirgt die oberste Kronenschicht, in der *Gyranthera caribensis* oft vorkommt, ohne jedoch irgendwo deutlich zu dominieren. Die riesigen Stämme der Gyranthera sind besonders im Mittelteil üppig mit Epiphyten besetzt und von Lianen umsponnen. Unter der obersten Kronenschicht folgen, ständig durch Übergangsstufen verwischt, mehrere sekundäre Kronenschichten. Von diesen zeigt unsere Abbildung nur die unterste, in der Palmen, Rubiaceen und Baumfarne zu erkennen sind. Darunter folgt eine stellenweise mehrere Meter hohe Kraut- und Staudenschicht, in der Zwergpalmen, Araceen und Heliconien wuchern, während der eigentliche Waldgrund selbst fast vegetationslos bleibt. Über die

Verteilung der quantitativ nicht ins Gewicht fallenden Moose wird eine gesonderte Mitteilung folgen. Der Boden besteht aus schwarzem Humus von auffallend geringer Mächtigkeit, wenig Rohboden, und ist stellenweise sehr reich an Gesteinsblöcken. Die verschiedenen Vegetationsstockwerke ergaben sehr verschiedene Schwierigkeiten der Bearbeitung: Einfach war es, die Oberflächenenergie der großblättrigen Staudenschichten zu vermessen, für alle höheren Stockwerke mußten größere Ästpartien und Einzelbäume gefällt werden, wobei immer der Grundsatz der Auswahl besonders üppiger Laubentfaltung befolgt wurde. Die Probeflächen entstammen der Nähe des Portachuelopasses aus 1100 m Meereshöhe.

Die Artenliste ist nach Schichten gegliedert und innerhalb derselben systematisch angeordnet. Dadurch kommt zum Ausdruck, daß die Hauptmasse der Dikotylen in den oberen Vegetationsstockwerken, die der Monokotylen in den unteren verteilt ist. Die größte Oberflächenentwicklung fällt auf die Baumschicht, die mit Ausnahme der *Cecropia* verhältnismäßig kleine, am wenigsten an Feuchtigkeit angepaßte und

Tabelle 12. *Aufnahme von Bestandesausschnitten der Selva nublada von Rancho Grande* (1).

Art	Deckungsgrad, geschätzt	Grüne Oberfläche	
		m^2 m^2	%
Gyranthera caribensis Pittier	3	1,120	58
Cecropia spec.	1	0,050	3
Ficus velutina Willd.	3	0,330	17
Arten der obersten Kronenschicht (Dikotyle)	4	1,500	78
Aphelandra pulcherrima H.B.K.	1	0,019	
Palicorea angustifolia H.B.K.	1	0,020	
Dikotyle Pflanzen der übrigen Schichten	1	0,039	2
Oplismenus hirtellus Beauv.	+	0,012	
Geonoma cf. pinnatifrons Willd.	3	0,092	
Sokratea exorrhiza Wendl.	2	0,045	
Cyclanthus bipartitus Sw.	3	0,052	
Dieffenbachia picta Engl.	+	0,008	
Philodendron fraternum Schott	1	0,005	
Heliconia psittacorum Sw.	3	0,066	
Calathea lutea Mey.	1	0,009	
Monokotyle Pflanzen der übrigen Schichten	4	0,289	15
Epiphytische Bromeliaceen, Phyllocacteen usw. (geschätzt, nicht vermessen)	2	0,025	1
Danaea alata J. Sm.	+	0,004	
Saccoloma inaequale Mett.	+	0,005	
Diplazium centripetale Max.	1	0,055	
Selaginella cf. flagellaris Spring	+	0,001	
Farnpflanzen zusammen	1	0,065	4
Gesamte grüne Oberfläche in m^2 über 1 m^2 Boden		1,918	100

sehr oberflächenaktive Blätter hat. Die floristisch so reiche Staudenschicht enthält fast nur großblättrige Pflanzen, so daß hier trotz der augenscheinlichen Üppigkeit nur erstaunlich geringe Oberflächen über der Flächeneinheit des Waldbodens entwickelt sind. Die Gesamtheit der großen Stoffproduktion der *Selva nublada* wird von nur 1,918 m^2 Blattflächen über 1 m^2 Boden bewältigt, was auf eine Nettoassimilationsmenge von ungefähr 107 g schließen läßt.

Ergebnisse aus dem Gebiet der Küstenkordillere und Vergleich mit denen aus den Alpen.

Es wurden Vegetationsausschnitte aus 2 Klimabezirken und aus 3 Höhenstufen untersucht und das Vegetationsmerkmal der Oberflächenentwicklung der Größenordnung nach bestimmt. In der folgenden Zusammenstellung bedeutet „Klimatyp A" feuchtes subtropisches Klima mit ausgeprägter Trockenzeit und deutlichen täglichen und nach Wetterperioden wechselnden Strahlungs-, Temperatur- und Feuchtigkeitsschwankungen; „Klimatyp B" ist ebenfalls feuchtes, subtropisches Klima, jedoch ohne ausgeprägte Trockenzeit und mit sehr gemilderten Schwankungen. „N" ist der errechnete Wert der mittleren Nettoassimilationsrate (s. S. 2) in Gramm, die eine Vorstellung des Leistungspotentials der vermessenen Blattflächen geben soll, ohne freilich den Anspruch zu erheben, mehr zu sein, als ein Anhaltspunkt zum vorläufigen Vergleich (Tab. 13)

Der mittlere Fehler der Messungen aus der Bergsabana, dem Quebradawald und dem Gratbusch entspricht den Schwankungsbreiten der alpinen Werte. Das Panicetum dagegen ist weit homogener in seiner Blattentwicklung, während der Wert aus dem Wolkenwald die geringste Genauigkeit aufweist. Trotzdem kann auch die mögliche Fehlerbreite von $\pm$ 18,2% nicht verwischen, daß sich der Wert gegen andere Höhenstufen deutlich absetzt. Der mittlere Fehler der beiden ersten Bestände

Tabelle 13.

	Klimatyp	Höhenstufe	Grüne Oberfläche m^2/m^2	Mittlere Fehler m^2	Mittlere Fehler %	N g
Montegrasbestand (Panicetum)	A	I ($\pm$ 1100 m)	0,960	0,09	0,9	54
Bergsabana (Paspaletum) . .	A	I	0,906	0,11	12,2	51
Quebradawald (Guareetum) .	A	II (1600 m)	6,180	0,17	2,7	346
Gratbusch (Espeletietum) . .	A	III (2630 m)	8,218	0,20	2,4	460
Selva nublada (Gyrantherawald)	B	I	1,918	0,35	18,2	107

dagegen ist größer als ihre Differenz, so daß sie ihrer Oberflächenentwicklung nach als größenordnungsmäßig gleich zu betrachten sind.

Somit ergibt sich:

1. Zwei Rasenbestände gleicher Höhenlage entwickeln trotz verschiedener Zusammensetzung und verschiedener Herkunft (Kunstwiese und Sekundärsabana) gleiche Blattflächen.

2. Die Oberflächenentwicklung der optimalen Vegetation nimmt im Gebiet der Küstenkordillere mit der Meereshöhe zu. Mittelwerte der

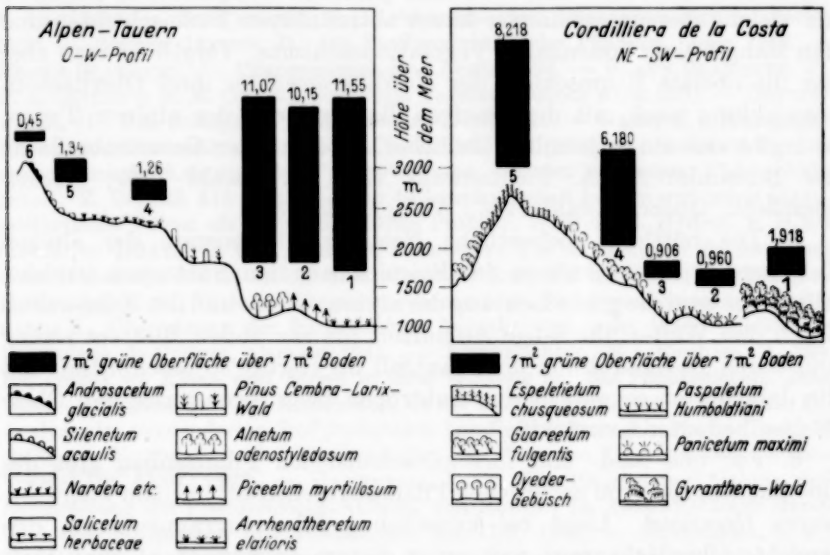


Abb. 6. Vergleich des alpinen und des Profils durch die Kordillere: Verteilung der wichtigsten Vegetationstypen nach der Höhe über dem Meere und Abhängigkeit der von diesen entwickelten assimilierenden Flächen von der Meereshöhe. Abnahme im alpinen, Zunahme im Kordilleren-Profil. Einfluß des Klimas bei gleicher Höhenstufe: Vergleich Panicetum und Paspaletum mit Gyrantherawald von Rancho Grande.

3 Höhenstufen: I. 1,261 m², II. 6,180 m², III. 8,218 m². Die Wirkung der Höhenlage ist also genau *umgekehrt wie in den Alpen*, wo sie die Oberflächenentwicklung herabsetzt. Die Vermutung liegt nahe, daß in den höchsten Anden ähnliche Verhältnisse wie in den Alpen herrschen, daß es also *ein Maximum der Oberflächenentwicklung im mittleren Gürtel* jener Gebirge gibt, die alle Klimastufen vom tropischen bis zum alpinen umfassen. Dieses Maximum fällt *nicht* mit dem optimalen Wuchsklima der üppigen Tropenzone zusammen, sondern liegt im gemäßigten Klima, das scheinbar jene großen Oberflächenenergien nötig macht, während sich in subtropischen und tropischen Verhältnissen Pflanzen mit geringer Blattfläche erhalten können.

3. Die Untersuchung des „Wolkenwaldes", welcher derselben Höhenstufe wie die beiden Rasengesellschaften angehört, zeigt, daß selbst unter seinen extrem günstigen Klimaverhältnissen nicht wesentlich mehr grüne Laubflächen gebildet werden als in einer einfachen Wiese oder Sabana. Voraussetzung ist freilich, daß man wirklich Proben aus dem *Waldinnern* zum Vergleich heranzieht; die Laubflächen der Randvegetation übertreffen sie um ein Vielfaches.

4. Der Aufbau der beiden Waldtypen der Küstenkordillere unterscheidet sich von dem der beiden subalpinen Waldtypen vor allem durch die vielen, aber untereinander kaum abtrennbaren Baumschichten und den Mangel einer bodennahen Vegetationsschichte. Vergleicht man aber nur die oberste Baumschicht der Kordillerenwälder ihrer Oberflächenentwicklung nach mit der einzigen Baumschicht der alpinen Typen, so ergibt sich ein erstaunlich ähnlicher Anteil an der Gesamtoberfläche der Bestände: *Alpen:* Fichtenwald 77%, Erlenwald 79%; *Küstenkordillere:* Quebradawald 72%, Wolkenwald 78%.

5. Die mittlere wöchentliche Nettoassimilationsrate der alpinen Tal-Lagen wird von keinem der Beispiele aus den Subtropen erreicht. Allerdings wird die große Leistung der alpinen Wiese und des Erlenwaldes durch den Winter, die lange Anlaufzeit bis zur vollen Blattentfaltung und durch Laubreduktion und Laubfall im Herbst so beschnitten, daß die Jahresraten gegenüber den Subtropen trotz ihrer geringeren Oberflächen bedeutend zurückbleiben.

6. Für den land- und forstwirtschaftlichen Pflanzenbau gibt die Oberflächengröße von natürlichen Pflanzengesellschaften einen wichtigen *oberen Grenzwert.* Liegt bei künstlichen Pflanzengruppierungen der erreichte Oberflächenwert weit unter diesem Grenzwert, so kann man — vorausgesetzt, daß keine anderen begrenzenden Umweltfaktoren wirksam werden — durch dichtere Pflanzung oder Mischkultur dem natürlichen Höchstwert nahezukommen suchen und so die gegebene Umwelt angemessener ausnützen. Umgekehrt kann eine Überschreitung dieses Grenzwertes in Monokulturen als Warnungszeichen dienen. Dabei ergibt sich aus unseren Messungen, daß die möglichen Oberflächen in den Tropen geringer angesetzt werden müssen als in der gemäßigten Zone.

7. Die Anwendung quantitativer biologischer Untersuchungen, welche bisher vor allem von der Hydrobiologie angeregt wurden, lohnt sich auch für die Vegetationsforschung der Festländer. Durch die Untersuchungen GESSNERS (1948) ist nachgewiesen, daß beispielsweise in Süddeutschland die Chlorophyllmenge unterhalb eines Quadratmeters Wasserfläche mehrerer Seen größenordnungsmäßig gleich der ist, welche das Laub über 1 m^2 Wiesenland oder Laubwald enthält; nämlich $\pm$ 1 g. Dieser bedeutsame Einblick in den Haushalt so grundverschiedener Pflanzen-

gemeinschaften Süddeutschlands bestätigt, was auch unsere Oberflächenuntersuchungen aus 2 weit voneinander getrennten Gebirgen vermuten lassen: *Daß das unendlich aufgesplitterte Reich der pflanzlichen Form überlagert und beherrscht wird von einem überraschend einheitlich auftretenden Wirkungsquantum der organischen Stoffproduktion.*

Literatur.

BEEBE, W., and J. CRANE: Ecologia de Rancho Grande, una selva nublada subtropical en el Norte de Venezuela. Bol. Soc. Venezolana Ciencias Naturales **9**, 73 (1948). — BORNEMANN, H.: Kohlensäure und Pflanzenwachstum. Berlin 1923. — BOYSEN-JENSEN, P.: Die Stoffproduktion der Pflanzen. Jena 1932. — BRAUN-BLANQUET, J.: Pflanzensoziologie. Berlin 1928. — BRAUN-BLANQUET, J., P. L. DIGILIO y M. M. GRASSI: Sociologia Vegetal. Buenos Aires 1950. — DOTTERWEICH, H.: Das biologische Gleichgewicht. Jena 1940. — GAMS, H.: Ökologische Reihen oder Assoziationshierarchie? Chron. Bot. **6**, 2 (1940). — GESSNER, F.: Die assimilatorische Leistung des Phytoplanktons, bezogen auf seinen Chlorophyllgehalt. Z. Bot. **38**, 414 (1943). — Der Chlorophyllgehalt im See und seine photosynthetische Valenz als geophysikalisches Problem. Schweiz. Z. Hydrol. **9**, H. 3/4 (1949). — HEATH, O. V. S., and F. G. GREGORY: The constancy of the mean net assimilation rate and its ecological importance. Ann. of Bot., N. s. **2**, 811 (1938). — HUMBOLDT, A. DE: Viaje a las regiones equinocciales del nuevo continente. (ALVARADO, S., Übersetzung der französischen Ausgabe vom Jahr 1816.) Bibliotheca Venezolana de Cultura, Caracas 1941. — LUNDEGÅRDH, H.: Biochem. Z. **154**, 195 (1924). — Klima und Boden in ihrer Wirkung auf das Pflanzenleben. Jena 1930. — Der Kreislauf der Kohlensäure in der Natur. Jena 1924. — MÜLLER, D.: Analyse der verminderten Stoffproduktion bei Stickstoffmangel. Planta (Berl.) **14** (1932). — NORDHAGEN, R.: Die Vegetation und Flora des Sylenegebietes. Norske Vedenskaps Akad. **1927**. — RAMENSKIJ, L. G.: Die Projektionsaufnahme und Beschreibung der Pflanzendecke. (Übers. von RUOFF.) In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. 11/6. 1932. — ROSEVAERA, G. M.: The Grasslands of Latin America. Imp. Bureau Pastures etc., Aberystwyth 1948. — VARESCHI, V.: Pflanzensoziologie. In Handbuch der Biologie, Bd. IV, S. 16/17. Potsdam 1943. — Waldtyp und Waldassoziation in den Bergwäldern des Obersten Isartales. Zbl. Forstwesen **60** (1934). — ZÖTTL, H.: Fragen der pflanzengeographischen Forschung. Naturw. Rundschau **9** (1950).

Nachtrag der Redaktion: KALLE, K.: Zur Frage der Produktionsleistung des Meeres. Dtsch. hydrogr. Z. **1**, 1 (1948).

Planta, Bd. 40, S. 36—69 (1951).

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock.)

ÜBER DEN EINFLUSS VON WIRKSTOFFEN AUF DIE WASSERPERMEABILITÄT DES PROTOPLASMAS.

Von

HERMANN VON GUTTENBERG und ANNA BEYTHIEN.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Mai 1951.)

I. Einleitung.

In einer früheren Arbeit (KRÖPELIN 1945, v. GUTTENBERG und KRÖPELIN 1947) konnten wir feststellen, daß die Gelenkpolster von *Phaseolus multiflorus* bei äußerer oder innerer Zufuhr von Heteroauxin oder pflanzeneigenem *(Avena-)* Wuchsstoff Bewegungen ausführen, die den normalen nastischen dieser Pflanze durchaus entsprechen. Als Erklärungsmöglichkeiten boten sich: Veränderungen der elastischen oder plastischen Eigenschaften der Membran, Änderung der Inhaltssaugkraft oder Beeinflussung der Wasserpermeabilität der Polsterzellen.

Die Annahme, daß Wuchsstoffe die Membran direkt beeinflussen, wurde durch längere Zeit von einer Reihe von Autoren vertreten (so z. B. von OVERBECK 1926, SÖDING 1931, HEYN ab 1931, RUGE 1937). Daß man so lange an dieser an sich recht unwahrscheinlichen Auffassung festhielt, hatte seinen Grund darin, daß Veränderungen des Plasmas und des Zellsaftes zwar beobachtet wurden, aber stets erst nach Ablauf von Zeiten, die erheblich länger waren als die Reaktionszeit des Wachstumsvorgangs. So fand FRIEDRICH (1936) zwar eine Zuckerzunahme auf der Unterseite geotrop gereizter, hier also mit Wuchsstoff angereicherter *Helianthus*-Sprosse, doch trat diese erst nach Stunden ein; auch nach RUGE finden verschiedene zellphysiologische Änderungen erst geraume Zeit nach der Wachstumsreaktion statt. Neuerdings wies RENDERS (1942) nach, daß unter dem Einfluß von Wuchsstoff eine erhöhte Atmung einsetzt, die erst nach Stunden und Tagen zu einer Vermehrung der osmotischen Substanz führt.

Der Einfluß von Wuchsstoffen auf die Plasmapermeabilität war noch von keiner Seite geprüft worden. Daher versuchten wir in unserer genannten Arbeit, die Möglichkeit einer Veränderung der Wasserpermeabilität des Plasmas unter dem Einfluß von Wuchsstoffen experimentell zu prüfen. Als Maß für eine erhöhte Wasserpermeabilität wählten wir die Beschleunigung der Deplasmolysezeit (HUBER und HÖFLER 1930). Da sich die Polsterzellen der Blattgelenke für solche

Versuche schlecht eignen, wählten wir für unsere Experimente zwei bewährte Objekte, nämlich die Epidermiszellen der Blattunterseite von *Rhoeo discolor* und die von Zwiebelschuppen. Eine Erhöhung der Wasserpermeabilität durch Wuchsstoffe konnte dann als erwiesen gelten, wenn die Deplasmolysezeit bei Zusatz solcher Stoffe gegenüber der von Kontrollen eine verkürzte war. In der Tat fanden wir eine solche Beschleunigung, und zwar gerade bei Anwendung von Heteroauxin- oder Diffusat-Konzentrationen, die innerhalb der bekannten physiologischen Grenzen lagen.

Die Versuche mußten infolge der Ereignisse des Jahres 1945 vorzeitig abgebrochen werden. Das Ergebnis schien aber wichtig genug, um ihre Wiederaufnahme auf breiterer Basis zu rechtfertigen. Der so lange gesuchte *Primäreffekt des Wuchsstoffes* war gefunden, und es war erkannt worden, daß er das Protoplasma und nicht die Zellwand betrifft. Besonders wichtig war, daß die Beeinflussung des Plasmas in kürzester Zeit erfolgt, und somit die ungemein rasche Wirkung des Heteroauxins, wie sie neuerdings besonders SUTTER (1944) in ihrer Arbeit fand, verständlich wurde. Nach unserer ersten Mitteilung (KRÖPELIN 1945) erschien eine Arbeit von KONINGSBERGER (1947), der an isolierten Protoplasten von Zwiebelschuppen eine vorübergehende, 7—9 min dauernde völlige Hemmung der Deplasmolyse durch Heteroauxin 10^{-7} und 10^{-6} feststellte, eine Erscheinung, von der später noch zu sprechen sein wird. Auch VELDSTRA (1944) griff den Gedanken auf und bezeichnete die Wuchsstoffe geradezu als Regulatoren der Plasmapermeabilität. Schließlich studierte POHL (1949) den Einfluß von Wuchsstoff auf die Ausdehnung von Koleoptilzylindern. Er stellte fest, daß die plötzliche Streckung der Zellen eine Erhöhung der Zellsaugkraft auf das 4—6fache voraussetzt. Diese Erhöhung kann nicht allein auf das Nachlassen des Wanddruckes zurückgeführt werden, da dessen Wert nur $^1/_4$—$^1/_{10}$ der Zellsaugkraft ausmacht. Andererseits ist besonders durch die Untersuchungen RUGEs bekannt geworden, daß die Inhaltssaugkraft bei der Zellstreckung nicht ansteigt, sondern beträchtlich absinkt. Es muß also noch ein weiterer Faktor für die rasche Wasseraufnahme verantwortlich sein, und als solcher käme die Erhöhung der Wasserpermeabilität in Frage. Auf einige weitere neue Arbeiten soll noch später eingegangen werden.

Im folgenden soll der Einfluß verschiedener Wuchs- und Hemmstoffe sowie anderer Wirkstoffe auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas beschrieben werden. Zur Ergänzung haben wir auch Versuche mit K^+- und Ca^{++}-Ionen durchgeführt, wie sie schon früher besonders FITTING (1915), GELLHORN (1930) und DE HAAN (1935) angestellt hatten. Schließlich wurden fördernde und hemmende Stoffe kombiniert geboten, in der Hoffnung, daß das Ergebnis solcher Experimente weitere Schlüsse auf die Art der Einwirkung gestatte.

II. Material und Methode.

Als günstigstes Untersuchungsobjekt erwiesen sich bei Vorversuchen wieder die violetten Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*. Auch hier mußten noch einige Vorsichtsmaßnahmen angewendet werden, um mit exakt vergleichbarem Material arbeiten zu können. Als osmotisch gleichwertig erwiesen sich die Epidermiszellen des mittleren Blattdrittels. Blattspitze und Blattbasis zeigten erhebliche Unterschiede des osmotischen Wertes. Die Epidermisplättchen wurden nahe der Mediane des Blattes entnommen, und zwar wurden quadratische Oberflächenschnitte von 1—2 mm Kantenlänge mit einer Rasierklinge möglichst dünn herausgeschnitten. Jedes Plättchen enthielt etwa 80—130 intakte Zellen. Für eine Versuchsserie wurden nur benachbart liegende Schnitte verwendet, so daß der Zustand der Protoplasten überall als übereinstimmend angesehen werden konnte. Die Beobachtung jeder Serie erfolgte an mehreren nebeneinander stehenden Mikroskopen. Dadurch war gleiche Temperatur und Lichtintensität gesichert. Das ist wichtig, da nach unseren Beobachtungen Schwankungen dieser Faktoren die Deplasmolysezeiten ändern. Sie werden durch sinkende Temperatur und Nachlassen der Beleuchtung, besonders am Abend, verlängert, erhöhte Temperatur führt eine beträchtliche Beschleunigung herbei. Diese Befunde stimmen mit einer Angabe von DERRY (1930) überein, der bei *Spirogyra* feststellte, daß die Plasmolysezeit kürzer wird, je höher die Temperatur steigt. Da wir Temperatur und Licht nie ganz konstant halten konnten, wurde von den 6—10 Versuchsserien eines Tages der Mittelwert bestimmt und in die Tabellen eingetragen. Neben den durch Licht und Temperatur bedingten Schwankungen fanden wir auch jahreszeitliche und klimatisch (z. B. durch Gewitter) bedingte. Die Plasmolyse selbst bewirkt nach FITTING (1919) und BÄRLUND (1929) bei *Rhoeo* keine Veränderung der Plasmapermeabilität.

Als Plasmolytikum erwies sich Mannit als vorzüglich brauchbar, da der *Rhoeo*-Protoplast für diesen Stoff nicht permeabel ist. In mehreren Dauerproben zeigte sich, daß auch nach 40stündigem Verweilen in der Mannit-Lösung die Plasmolyse nicht zurückgegangen war. Als Stammlösung diente eine 0,5 molare Lösung von Mannit in destilliertem Wasser. Die Plasmolyse wurde meist mit einer 0,3 molaren, die Deplasmolyse mit einer 0,2 molaren Lösung durchgeführt. Im einzelnen richtete sich die Konzentration nach dem osmotischen Wert der jeweils zur Untersuchung verwendeten *Rhoeo*-Epidermis. Dieser wurde jeweils durch Grenzplasmolyse mit abgestuften Mannit-Lösungen bestimmt, die um 0,0025 mol differierten.

Im allgemeinen wurde gleichzeitig mit mehreren Serien gearbeitet. Die Kontrollserie enthielt für Plasmolyse und Deplasmolyse die reine Mannit-Lösung, bei den Versuchsserien wurde beiderlei Lösungen der jeweils zu prüfende Wirkstoff in abgestuften Konzentrationen zugesetzt. Die Schnitte verweilten erst 30—60 min lang in bedeckten Glasdosen im Plasmolytikum. Dann wurden sie mit einer Platinöse in das Deplasmolytikum übertragen und darin 2—5 min lang gebadet, um die Reste des Plasmolytikums zu entfernen. Anschließend kamen sie auf einen hohl geschliffenen Objektträger mit Deplasmolytikum unter das Mikroskop und wurden hier im offenen Tropfen 1 min bis zur ersten Zählung gelassen. Darauf brachten wir sie in die Deplasmolyselösung zurück. Dieser Vorgang wurde in Intervallen von wenigen Minuten wiederholt, bis kurz vor Eintritt der vollständigen Deplasmolyse die Zählung unter einem mit Glassplittern gestützten Deckgläschen vorgenommen wurde. So waren die Schnitte stets völlig umspült, von der Luft nicht abgeschnitten, und die Lösung vor Verdunstung geschützt.

Die Auswertung nahmen wir zuerst nach der von KACZMAREK (1929) angewendeten Methode vor, die auf früheren Angaben von FITTING (1915) fußt. Bei dieser Berechnungsart werden alle violetten Zellen eines Schnittes ausgezählt, und die im jeweiligen Versuchsstadium plasmolysierten Zellen in Prozenten der Gesamt-

zellenzahl angegeben. Im Verlaufe des Plasmolyseversuches steigen also die Zahlen bis 100 an, wogegen sie bei der Deplasmolyse abnehmen bis schließlich der Nullwert erreicht ist, d. h. alle Zellen der Membran wieder anliegen. Später wendeten wir die einfachere und anschaulichere Berechnungsart an, die DE HAAN (1935) beschrieb. Das DE HAANsche Verfahren besteht in einer Bestimmung des Quotienten aus der Deplasmolysezeit der Kontrolle = Tk und der Deplasmolysezeit des Versuches = Tv. Ist Tk = Tv, so ist der Quotient = 1 und die Versuchslösung ohne besondere Wirkung. Die beschleunigende Wirkung eines Stoffes wird durch einen Quotienten größer als 1 angezeigt, die hemmende durch einen, der kleiner als 1 ist. Die absoluten Zeiten dieser Versuche entsprachen den früheren, d. h. die Deplasmolysezeiten der Kontrollen schwankten je nach der Temperatur zwischen etwa 20 und 40 min. Eine dauernde Hemmung der Deplasmolyse wird in den Tabellen durch einen — angedeutet. Es handelt sich dabei um die besonderen Fälle, in denen die Protoplasten die Zellwand überhaupt nicht mehr erreichten. Ein + in den Tabellen bedeutet Beschädigung oder Zerstörung der Protoplasten.

III. Versuchsergebnisse.

a) Wachstumsfördernde Stoffe.

1. Heteroauxin. Für die Versuche mit Heteroauxin (im folgenden mit H.A. abgekürzt) wurde β-Indolylessigsäure der Firma Merck, Darmstadt, verwendet. Die Substanz wurde bei 40° gelöst, in braunen Flaschen kühl aufbewahrt und die Lösung höchstens 3 Tage lang benützt, da sie sich bald zersetzt (blaßrosa Färbung). Die in den Tabellen angegebenen H.A.-Konzentrationen bedeuten g/cm³. Geprüft wurde zwischen 10^{-3} und 10^{-7}. Die Konzentration 10^{-3} bewirkt in kurzer Zeit eine völlige Zerstörung des Protoplasten, über die später noch näher berichtet werden wird. Schon hier sei bemerkt, daß die beobachteten Veränderungen hier und in den folgenden Versuchen nicht etwa durch Änderungen des p_H-Wertes bewirkt wurden, sondern spezifische Effekte darstellen. Der p_H-Wert wurde erst mit Hilfe der Indikatorpapiere von Dr. HÖLL geprüft, deren Genauigkeit 0,2 p_H beträgt. Später verwendeten wir ein Ionometer mit Chinhydronelektroden und einer Genauigkeit von p_H 0,1. Über die Einzelergebnisse dieser Untersuchung wird in einer anschließenden Arbeit berichtet werden. Tabelle 1 und 2 enthalten das Ergebnis von Plasmolyse- und Deplasmolyseversuchen nach der Auswertung von KACZMAREK. In den Deplasmolyseversuchen vom 16. 6. 49 wurde das H.A. nur dem Deplasmolytikum zugesetzt. Das Plasmolytikum enthielt diese Substanz also *nicht*. Man erkennt (Tabelle 1), daß in der Kontrollösung nach 10 min nur mehr 45% der Zellen plasmolysiert sind, und nach 40 min alle Protoplasten den Zellwänden wieder anliegen. Bei Zusatz von H.A. beobachtet man nach 10 min zwischen 10^{-4} und 10^{-7} eine steigende und schließlich sehr starke Hemmung des Wassereintrittes in die Zellen. Sehen wir zunächst von der Wirkung der Konzentration 10^{-4} ab, so ergibt sich, daß diese Hemmung nur eine vorübergehende ist. Bei 10^{-5} dauert sie noch eine Zeitlang an, aber bei 10^{-6} und 10^{-7}, also

Tabelle 1.

Deplasmolyse.

16. 6. 49.

Zeit min	Kontrolle	Versuch mit Heteroauxin			
		10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
10	45	62	75	80	88
15	28	50	50	13	9
20	22	40	31	4	0
25	11	40	10	2	
30	6	32	2	0	
35	2	32	0		
40	0	32			
100		32			

Tabelle 2.

17. 6. 49.

Zeit min	Kontrolle	Versuch mit Heteroauxin			
		10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
		Plasmolyse			
25	71	35	80	100	100
30	80	50	90		
35	85	80	100		
50	100	100			
		Deplasmolyse			
10	60	90	60	57	45
15				53	28
20	39	88	30	17	14
25	23	85	16	10	3
27		85			0
30	13	85	9	6	
35	11	84	4	0	
40	9	84	0		
45	4	84			
50	0	84			
100		84			
100% Deplasmolyse nach	50 min	—	40 min	35 min	27 min

gerade bei den physiologisch bedeutsamsten Konzentrationen, erfolgt ein plötzlicher Umschlag. Das Wasser tritt jetzt so rasch in die Zellen ein, daß bei 10^{-7} schon nach 20 min (gegenüber 40 der Kontrolle) alle Protoplasten die Zellwand wieder erreicht haben. Damit ist erwiesen, daß innerhalb dieses Konzentrationsbereiches H.A. die Wasserpermeabilität der Protoplasten ausgiebig erhöht.

Daß dieses Ergebnis jederzeit reproduzierbar ist, zeigt zunächst Tabelle 2. Bei diesem Versuch war das H.A. schon dem Plasmolytikum zugesetzt worden. Das gilt mit wenigen Ausnahmen auch für alle späteren Versuche. Der zeitliche Verlauf der Deplasmolyse ist etwas verschoben,

überall dauert die Erreichung der vollständigen Deplasmolyse länger, aber wieder ist die Deplasmolysezeit bei Zusatz von H.A. 10^{-7} etwa nur halb so lang als die der Kontrolle. Die anfängliche Hemmung der Deplasmolyse, die wir im früheren Versuche fanden, fehlt jetzt. Das hat seinen Grund darin, daß wir hier, wie eben erwähnt, das H.A. schon dem Plasmolytikum zugesetzt hatten. Auch in späteren Versuchen erschien die Anfangshemmung immer nur dann, wenn das Plasmolytikum H.A.-frei gewesen war. Tabelle 2 enthält auch Angaben über die Plasmolyse. Bis zu 15 min verhielten sich die Protoplasten in allen Lösungen (mit Ausnahme von H.A. 10^{-4}) gleich. Es erfolgte überall eine allmähliche Abhebung der Protoplasten. Die vorübergehende Hemmung durch das H.A. trat hier also nicht auf. Nach 15 min machen sich schon sehr deutliche Unterschiede bemerkbar. Während in der Kontrolle erst 71% der Zellen plasmolysiert sind, sind es in H.A. 10^{-6} und 10^{-7} bereits alle. Diese Förderung des Wasser*aus*trittes entspricht also hier durchaus der des *Ein*trittes bei der Deplasmolyse.

Die Konzentration 10^{-5} zeigt in beiden Versuchsreihen eine erheblich geringere fördernde Wirkung. H.A. 10^{-4} bewirkt sowohl bei der Plasmolyse als auch bei der Deplasmolyse ein völlig abweichendes Verhalten. Im ersten Falle beobachtet man anfangs eine sehr starke Hemmung des Wasseraustrittes, die aber nur vorübergehend ist, so daß die 100% Plasmolyse gleichzeitig mit der der Kontrollen erreicht wird. Bei der Deplasmolyse ergab sich auch eine starke Hemmung, die aber hier andauert, und zwar mit dem Effekt, daß auch nach 100 min viele Protoplasten die Zellwände nicht mehr erreichten. In der ersten Versuchsserie blieben 32%, in der zweiten sogar 84% der Zellen dauernd plasmolysiert. Bevor wir auf diese Erscheinungen näher eingehen, sei noch das Ergebnis von Versuchsreihen nach der Berechnungsart von DE HAAN mitgeteilt. Tabelle 3 enthält die Tk/Tv-Quotienten in verschiedenen H.A.-Konzentrationen. Man erkennt deutlich, daß die Deplasmolysezeiten bei H.A. 10^{-7} nur etwa halb so lange sind als bei den Kontrollen; der Durchschnittswert Tk/Tv beträgt 2,04. Bei 10^{-6} schwankt der Quotient um 1,50, bei 10^{-5} um 1,30. Die Beschleunigung nimmt also in diesem Bereich allmählich ab. Die Konzentration 10^{-3} zerstörte wieder alle Protoplasten; in 10^{-4} trat zum Teil derselbe Effekt ein (+) oder die Proto-

Tabelle 3. *Heteroauxin.*

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
16. 6. 49	+	–	1,25	1,50	2,08
17. 6. 49	+	+	1,55	1,75	2,00
18. 6. 49	+	–	1,14	1,33	2,00
20. 6. 49	+	+	1,36	1,53	2,16
2. 8. 49	+	–	1,25	1,43	1,85
13. 10. 49	+	0,41	1,31	1,68	2,16

plasten erreichten die Wand nicht mehr (–). Nur im Versuch vom 10. 10. trat völlige Deplasmolyse ein, wobei eine sehr starke Hemmung des Wassereintrittes beobachtet wurde, die sich im Quotienten 0,41 ausdrückt. Im gleichen Monat gelangen noch weitere solche Versuche, die in der Tabelle 20, S. 61, enthalten sind. Die erzielten Werte sind dort: 0,62, 0,44, 0,70 und 0,53. Die Hemmung ist also stets zu beobachten, wenn überhaupt eine völlige Deplasmolyse eintritt. Eine solche erzielten wir in der Konzentration 10^{-4} regelmäßig nur im Oktober. Offenbar ist also zu dieser Jahreszeit der Protoplast von *Rhoeo* gegen H.A. resistenter als in den Sommermonaten.

Aus dem bisher Mitgeteilten geht klar hervor, *daß die physiologischen Konzentrationen 10^{-6} und besonders 10^{-7} die Wasserpermeabilität erhöhen.* Die Wirkung nimmt mit *steigender* Konzentration *ab* und ist bei 10^{-5} nur mehr gering. Dieses Verhalten erfordert eine Erklärung, ebenso die vorübergehende Hemmung zu Anfang der Deplasmolyse (Tabelle 1), die auch KONINGSBERGER (1947) beobachtete. Vor allem aber sind die Erscheinungen, die in den H.A.-Lösungen 10^{-6} auftreten, zunächst kaum verständlich. Wir wollen im folgenden versuchen, das Gesamtverhalten einheitlich zu deuten, und gehen dabei am besten von der Wirkung der Konzentrationen 10^{-3} und 10^{-4} aus.

H.A. 10^{-3} bringt den Protoplasten zur Auflösung. Bemerkt sei, daß die Plasmen anderer Pflanzen gegenüber H.A. noch empfindlicher sind. Während es bei *Rhoeo* in H.A. 10^{-3} immerhin einige Zeit dauert, bis die Protoplasten zerfließen, liefen alle Zellen von Zwiebelschuppenepidermen, *Helodea*-Blättern und *Salvinia*-Wasserblättern bei dieser Konzentration sehr schnell aus. In der Annahme, daß die Art der Zerstörung des Protoplasten gewisse Schlüsse auf die Wirkungsweise des H.A. gestatte, studierten wir den Zerstörungsvorgang bei *Rhoeo* und *Allium* genauer. Zu diesem Zweck plasmolysierten wir die Zellen erst in Mannit *ohne* H.A.-Zusatz. Einen solchen boten wir erst bei der nachfolgenden Deplasmolyse. Nach 10—15 min beginnen hier die freien Protoplastenflächen bei beiden Objekten Veränderungen zu zeigen. Bei *Allium* bilden sich breite Kappen von schaumiger Struktur (Abb. 1, 3a) aus. Die Schaumbläschen werden bald größer und fließen innerhalb der nächsten 10—15 min auseinander (Abb. 1, 3b). Das Plasmalemma hat sich also aufgelöst, während der Tonoplast noch einige Zeit erhalten bleibt. Nach einer Gesamtdauer von 23—25 min löst sich schließlich auch dieser auf und der Zellsaft ergießt sich in den Zellraum. Bei *Rhoeo* fehlen die schaumigen Kappen. Dafür häufen sich an der freien Plasmagrenze kleine, stark lichtbrechende Tröpfchen an (Abb. 2, 3a), die im Verlaufe der nächsten 5—10 min anschwellen (Abb. 2, 3b). Nach insgesamt 23—25 min kommt es dann auch hier zur schrittweisen Auflösung wie bei *Allium*, die Tröpfchen liegen schließlich frei der Zellwand an (Abb. 2, 3c).

Die geschilderte Zerstörung der Protoplasten findet auch in H.A. 10^{-4} statt, wenn sich die Zellen im Zustand erhöhter Empfindlichkeit befinden.

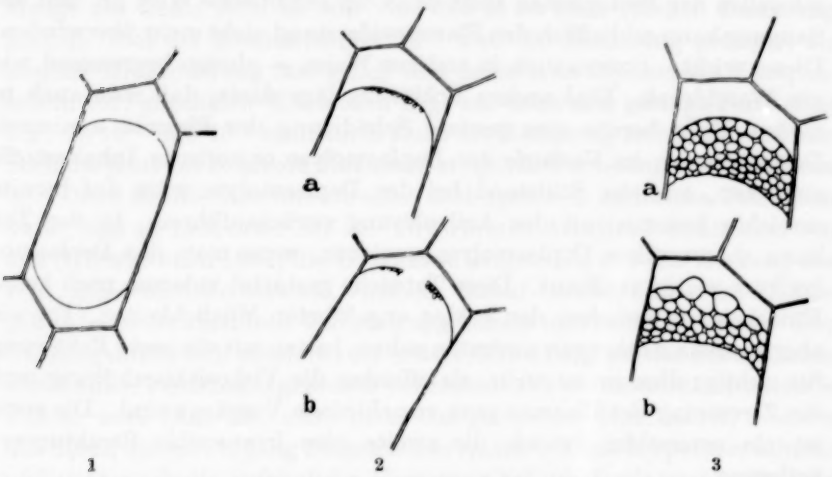


Abb. 1. *Allium*-Epidermiszellen. 1 Deplasmolyse in Mannitlösung; 2a, b, dasselbe bei Zusatz von Parasorbinsäure 10^{-2}; 3a, b, dasselbe bei Zusatz von H.A. 10^{-3}.

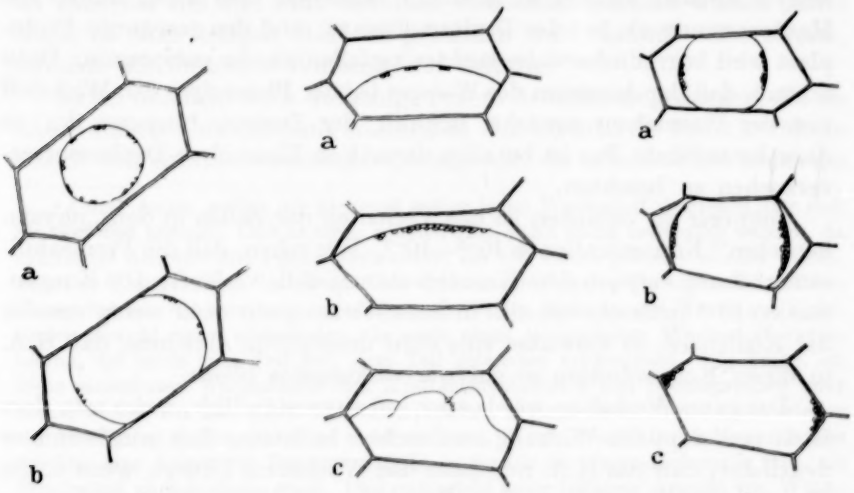


Abb. 2. *Rhoeo*-Epidermiszellen. 1a, b fortschreitende Deplasmolyse in Mannitlösung; 2a, b, c, dasselbe bei Zusatz von Parasorbinsäure 10^{-2}; 3a, b, c, dasselbe bei Zusatz von H.A. 10^{-3}.

Zu gleicher Zeit fanden wir aber mehrfach Fälle, in denen keine Zerstörung eintrat, vielmehr die Deplasmolyse nicht mehr vollständig wurde, also Dauerplasmolyse eintrat. Für diese sind zwei Erklärungen möglich. Entweder liegt eine starke Viskositätserhöhung vor. Der Plasmawider-

stand gegen den Eintritt von Wasser würde dann solange überwunden werden, als die Inhaltssaugkraft der Zelle noch groß ist. Beim Anschwellen der Protoplasten sinkt dann der osmotische Wert ab, und die Saugung kann schließlich den Plasmawiderstand nicht mehr überwinden. Dieser wirkt — wenn auch in anderer Weise — ebenso begrenzend wie ein Wanddruck. Eine andere Erklärung läge darin, daß man auch in diesem Falle bereits eine gewisse Schädigung des Plasmas annimmt. Dann könnten im Verlaufe der Deplasmolyse osmotische Inhaltsstoffe austreten, und der Stillstand bei der Deplasmolyse wäre auf bereits erreichte Isotonie mit der Außenlösung zurückzuführen. In der Tat kann man restlose Deplasmolyse erreichen, wenn man das Deplasmolytikum weiter verdünnt. Diese Tatsache gestattet indessen noch keine Entscheidung zwischen den beiden angeführten Möglichkeiten. Da wir aber niemals Anthocyan austreten sahen, halten wir die erste Erklärung für richtig; dies um so mehr, als offenbar die Viskositätserhöhung und die Zerstörung des Plasmas ganz verschiedene Vorgänge sind. Die erste ist ein reversibler Prozeß, die zweite eine irreversible Strukturveränderung.

Daß die Protoplasten in der Lösung 10^{-4} nicht schon bei der Plasmolyse zerstört werden, ist leicht zu verstehen. Bei dieser nimmt die Hautspannung ab, bei der Deplasmolyse zu, und der gespannte Protoplast wird begreiflicherweise leichter zerfallen als der entspannte. Dazu kommt, daß der Ausstrom des Wassers bei der Plasmolyse den Wirkstoff von der Plasmahaut zunächst fernhält, der Zustrom hingegen ihn an diese heranführt. Das ist bei allen derartigen Plasmolyse-Deplasmolyseversuchen zu beachten.

Schwerer zu verstehen ist das Verhalten der Zellen in den „physiologischen" Konzentrationen 10^{-5}—10^{-7}. Wir sehen, daß die Permeabilitätserhöhung *entgegen* dem Konzentrationsgefälle verläuft. Die Konzentration 10^{-5} unterscheidet sich in ihrer Wirkung nur mehr wenig von der der Kontrollen, es wäre aber eine wohl unmögliche Annahme, daß H.A. in dieser Konzentration so gut wie wirkungslos bliebe.

Das ganze Verhalten würde aber sofort verständlich, wenn man dem H.A. eine doppelte Wirkung zuschreibt. In letzter Zeit wurde immer deutlicher, daß das H.A. nur dann das Wachstum fördert, wenn es im Plasma gebunden vorliegt. Besonders klar geht das aus den Arbeiten von GEIGER und SUTTER (1943) und SUTTER (1944) hervor. Gurkenhypokotyle, die sich in H.A. 10^{-6}-Lösung befinden, binden nur einen geringen Anteil der gebotenen Substanz. Die Anzahl der gebundenen Moleküle reicht längst nicht aus, um die Gesamtoberfläche der Protoplasten zu bedecken. Danach ist anzunehmen, daß es nur bestimmte Reaktionsorte im Protoplasma sind, an die sich die Substanz anlagert. Wir möchten nun annehmen, daß nur das gebundene H.A. die Wasserpermeabilität

erhöht, das freie sie dagegen herabsetzt, und eine zu hohe Konzentration des freien H.A. das Plasma schließlich zerstört. In 10^{-4} herrscht die Menge des freien H.A. so sehr vor, daß es zu einer starken Hemmung kommt. Bei der Konzentration 10^{-5} wird die Hemmung geringer, sie kommt der Förderung fast gleich und daher tritt annähernde Kompensation auf; gegenüber Kontrollen liegt nur noch eine geringe Förderung vor. In 10^{-6} und 10^{-7} schließlich sinkt die Hemmung soweit ab, daß nur noch die jetzt bis zu einem Maximum steigende Förderung zu beobachten ist. Diese könnte eine direkte sein, doch sprechen zahlreiche Tatsachen dafür, daß sie indirekter Art ist. In mehreren Arbeiten hat der eine von uns (GUTTENBERG 1942) die Hypothese aufgestellt, daß die Wirkung des H.A. keine unmittelbare sei, vielmehr darauf beruhe, daß es im Plasma gebundenes Auxin durch Verdrängung befreie und damit aktiviere. Der Vorgang dürfte sich schon bei der ersten Einwirkung auf das Protoplasma durch einen Verdrängungsprozeß vollziehen. Der permeabilitätsfördernde Faktor wäre dann also nicht mehr das gebundene H.A. selbst, sondern das durch diesen Vorgang freigemachte Auxin[1]. Diese Hypothese könnte vielleicht auch die anfängliche Hemmung bei der Deplasmolyse in 10^{-5} bis 10^{-7} im ersten Versuch (Tabelle 1) erklären. Das gebotene H.A. ist zunächst frei und muß demnach viskositätserhöhend wirken. Erst wenn es nach einigen Minuten gebunden wird, kommt seine zweite, nämlich die fördernde Wirkung, zur Geltung.

Es sei nunmehr noch auf einige neuere Arbeiten eingegangen, die im Laufe unserer Untersuchung erschienen. Vor allem ist die schon erwähnte Arbeit von KONINGSBERGER bedeutungsvoll. Er arbeitete mit isolierten

[1] Unter Auxin wollen wir hier und später jenen Wuchsstoff verstehen, der sich als säurefest erweist. Daß es einen solchen gibt, kann kaum bezweifelt werden, da zahlreiche Autoren mit Pflanzenextrakten, die mit Säure gekocht worden waren, negative Krümmungen im *Avena*-Test und entsprechendes Verhalten in anderen Testen fanden. So konnten neuerdings auch AVERY, BERGER und WHITE aus Kohlsorten sowohl einen säurefesten als auch einen laugenfesten Wuchsstoff extrahieren, die beide zum Teil frei, zum Teil gebunden vorkommen. Die Frage, ob diese säurefesten Wuchsstoffe dem KÖGLschen Auxin a und b entsprechen oder nicht, wollen wir hier nicht aufwerfen; sie ist, solange diese Stoffe nicht wieder zur Verfügung stehen, ohnedies nicht zu lösen. Nach Abschluß des Manuskriptes erschien eine Arbeit von REINERT (1951), in der für die *Avena*-Koleoptile H.A. als Wuchsstoff nachgewiesen wird. Dies entspricht einer früheren Angabe von WILDMAN und BONNER (1948). In einer Nachuntersuchung fanden auch wir in *Äther*-Extrakten aus Koleoptilen einen Wuchsstoff, der durch Säure und Erbsenenzym zerstört wird, also dem H.A. entspricht. Indessen scheint für das Ergebnis solcher Versuche das Extraktionsmittel von großer Bedeutung zu sein. Wir werden bald über Versuche berichten, in denen wir aus gleichem Material bei Alkoholextraktion säurefesten, bei Ätherextraktion laugenfesten Wuchsstoff erhielten, von welchen nur der zweite durch Erbsenenzym zerstörbar war. Haben die säurefesten Wuchsstoffe nichts mit KÖGLS Auxin zu tun, so eröffnet sich eine neue Möglichkeit, nämlich die, daß es zwei Modifikationen des H.A. gibt, eine säurefeste, basipetal wandernde und eine laugenfeste mit apolarer Ausbreitung.

Allium-Protoplasten (Zwiebelschuppenmesophyll) und verwendete als Plasmolytikum Glukose. Die Isolierung der Zellen hält er für wesentlich, da sonst eine Adsorption der Wirkstoffe an die Zellmembran diese Stoffe von der Plasmahaut abhalten könnte. Wir möchten dem entgegenhalten, daß die Lösung in solchem Überschuß geboten wird, daß an diese Möglichkeit kaum zu denken ist. Andererseits ist stets zu befürchten, daß die Protoplasten bei ihrer Isolierung verletzt werden, und schließlich stehen bei dieser Methode immer nur wenige Einzelprotoplasten für die Beobachtung zur Verfügung. KONINGSBERGER fand gleich uns eine starke Anfangshemmung der Deplasmolyse, wenn er H.A. 10^{-6} oder 10^{-7} zusetzte. Danach begann die Schwellung, doch erfolgte sie langsamer als bei den Kontrollen. Schließlich waren die Protoplasten teils kleiner, teils aber auch größer als die der Kontrolle. KONINGSBERGER selbst bezeichnet sein Ergebnis als vorläufig. Die Anzahl der von uns geprüften Zellen dagegen war so groß, daß wir an der Richtigkeit unserer Befunde nicht zweifeln können. Übrigens war auch für KONINGSBERGER das Wesentliche der Nachweis, daß das H.A. zunächst das Protoplasma und nicht die Zellwand beeinflußt. In vielem treffen sich seine Gedankengänge mit den unseren. BRAUNER und HASMAN (1949) bauten die Untersuchungen von REINDERS (1942) weiter aus. Diese fand, daß Scheiben aus Kartoffeln und anderen Knollen und Rüben eine deutliche Steigerung der Wasseraufnahme zeigen, wenn H.A. in der Konzentration 10^{-5}—10^{-6} zugesetzt wird. Diese Tatsache wurde durch COMMONER und Mitarbeiter (1943), OVERBEEK (1944) und LEVITT (1948) bestätigt, drei Arbeiten, die uns leider derzeit nicht zugänglich sind. Die genannten Autoren versuchten, die erleichterte Wasseraufnahme teils durch Vermehrung der osmotischen Substanz verbunden mit Atmungssteigerung zu erklären. Schließlich betrachtete LEVITT wieder eine Erhöhung der Zellwandplastizität als Ursache. Demgegenüber stellten BRAUNER und HASMAN fest, daß durch das H.A. 10^{-5}—10^{-6} der Wassereintritt in die Gewebe erleichtert wird, was durchaus in Übereinstimmung mit der schon erwähnten Untersuchung von POHL (1949) steht.

2. *Avena-Wuchsstoff.* In unseren älteren Versuchen mit *Phaseolus*-Gelenken bewirkten Spitzendiffusate von *Avena*-Koleoptilen die gleichen Effekte wie H.A. Für unsere Plasmolyseversuche benützten wir jetzt einen nach den Angaben von MOEWUS (1949) hergestellten Extrakt. *Avena*-Koleoptilen wurden, nachdem sie eine Länge von 4—5 cm erreicht hatten, um 10 mm dekapitiert; 100 solche Spitzen hatten ein Gewicht von rund 0,7 g. Sie wurden in einer Reibschale mit 10 cm^3 bidestilliertem Wasser und einem Tropfen 10%iger Essigsäure verrieben. Bei + 4° C stand der Extrakt 24 Std im Dunkeln. Dann filtrierten wir ab, wobei 7 cm^3 erzielt wurden. Nach MOEWUS besitzt ein so hergestelltes Filtrat im Kressewurzeltest die gleiche Wirkung wie H.A. 10^{-6}. Wir verdünnten

unser Filtrat noch weiter, so daß Lösungen entsprechend H.A. 10^{-7}, 10^{-8} und 10^{-9} entstanden. In Tabelle 4 sind diese Konzentrationen eingetragen.

Wie die Tabelle 4 zeigt, wirkten sowohl die Konzentrationen 10^{-7} als auch 10^{-8} fördernd auf die Deplasmolyse ein, bei 10^{-9} erlosch der Effekt. Das Maximum liegt bei 10^{-8}. Vergleicht man diese Befunde mit den H.A.-Versuchen (Tabelle 3), so sieht man, daß die errechneten Vergleichskonzentrationen 10^{-8} und 10^{-7} den Konzentrationen 10^{-7} und 10^{-6} des H.A. entsprechen. Unser Filtrat war also offensichtlich konzentrierter als das von Moewus und dürfte einer H.A.-Konzentration von 10^{-5} entsprochen haben. Daß Extrakte aus Koleoptilspitzen nicht immer die gleiche Wuchsstoffkonzentration aufweisen, geht auch aus der späteren Tabelle 22 hervor. Hier war das Tk/Tv-Verhältnis bei 10^{-7} im Durchschnitt 1,15, bei 10^{-8} aber 1,47. Das entspricht etwa den H.A.-Konzentrationen 10^{-5} und 10^{-6} der Tabelle 3.

Tabelle 4. *Avena-Wuchsstoff.*

	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}
16. 1. 50	1,50	2,00	1,00
24. 1. 50	1,39	1,74	1,00
25. 1. 50	1,20	1,50	1,00

Pflanzeneigener Wuchsstoff bewirkt also in den physiologisch wirksamen Verdünnungen eine deutliche Beschleunigung der Deplasmolysegeschwindigkeit und somit eine Erhöhung der Wasserpermeabilität.

Auch bei der Verwendung von *Avena*-Wuchsstoff stoßen wir auf die Tatsache, daß die Wirkung mit abnehmender Konzentration zunimmt. Dieses Verhalten ist ja schon lange für viele Wirkstoffe bekannt, aber wohl bisher zu wenig analysiert worden. Auch hier wird man den Tatsachen wohl am ehesten gerecht, wenn man annimmt, daß die Substanz neben der fördernden auch eine hemmende Wirkung hat. Die Förderung setzt offenbar eine Bindung an bestimmte Plasmaorte voraus. Sowie diese „besetzt" sind, wirkt der Überschuß an andern Stellen hemmend. Eine absolute Hemmung konnten wir bei Verwendung von *Avena*-Wuchsstoff zwar niemals beobachten. Das dürfte aber nur daran liegen, daß die dazu notwendigen hohen Konzentrationen nicht herstellbar sind.

3. Phenylessigsäure. Von den bekannten synthetischen Wuchsstoffen stand uns leider nur Phenylessigsäure zur Verfügung. Sie ist in der Konzentration 10^{-2} in Wasser löslich. Wie aus der Tabelle 5 hervorgeht, tritt bei der Verdünnung 10^{-5} eine deutliche Beschleunigung der Deplasmolyse ein. Sie ist hier maximal und entspricht in ihrem Ausmaß etwa der von H.A. 10^{-6}. In stärkerer Verdünnung (10^{-6}, 10^{-7}) bleibt die Phenylessigsäure wirkungslos. Sie scheint es auch bei der Konzentration 10^{-4} zu sein, doch ist wieder anzunehmen, daß sich hier zwei Vorgänge kompensieren, nämlich ein fördernder und ein hemmender. Denn die nächste Stufe 10^{-3} zeigt bereits eine deutliche Hemmung des Wasser-

eintrittes. In der Konzentration 10^{-2} wird der Protoplast schon nach 2 min langer Einwirkung zerstört. Der Zellsaft wird blaßrosa und läuft aus.

Das Verhalten in der Konzentration 10^{-3} muß noch näher beschrieben werden. Schon bei der Plasmolyse zeigt sich gegenüber den Kontrollen ein Unterschied. Sie beginnt zwar gleichzeitig mit der der Kontrollen. verläuft aber dann beschleunigt, was bei den andern Konzentrationen nicht zutraf. Bald darauf kommt sie zum Stillstand, und nach 15 bis 20 min langer Einwirkung lösen sich die Protoplasten unter den für H.A. 10^{-3} geschilderten Vorgängen auf. Um die Deplasmolyse studieren zu können, plasmolysierten wir daher die Schnitte erst *ohne* Phenylessigsäure und setzten diese erst dem Deplasmolytikum zu. Auch jetzt wurde die Mehrzahl der Protoplasten zerstört, in einigen Fällen gelang es aber, eine zunächst 10—20 min anhaltende Hemmung der Deplasmolyse zu beobachten. Diese Hemmung ist in Tabelle 5 eingetragen.

Tabelle 5. *Phenylessigsäure.*

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
28. 8. 49	0,51	1,01	1,47	1,00	1,00
29. 8. 49	0,70	1,00	1,44	1,00	1,00
30. 8. 49	0,51	1,00	1,60	1,00	1,00

Innerhalb der nächsten 3—5 min dehnten sich dann die Protoplasten mit großer Geschwindigkeit aus und zerplatzten stets beim „Aufprall" auf die Zellwand. Offenbar ist also nach 10—20 min bereits jene Schädigung erreicht, die bei 10^{-2} zur sofortigen Zerstörung führt.

Bei Anwendung des WENTschen *Avena*-Testes erhielten wir mit Phenylessigsäure 10^{-3} und 10^{-4} in Agar keine Krümmung, dagegen traten bei 10^{-5}—10^{-7} nach $1^1/_2$—2 Std negative Krümmungen ein. Den Ausfall der Krümmungen bei 10^{-3} und 10^{-4} möchten wir als Kompensationseffekt deuten. Diese Konzentrationen müßten an wuchsstofffreien Testpflanzen eine positive Krümmung herbeiführen. Da aber die Koleoptilen selbst noch fördernden Wuchsstoff enthalten, könnten sich die Wirkungen aufheben. Vielleicht erklärt sich auch die Tatsache, daß noch die Konzentrationen 10^{-6} und 10^{-7} negative Winkel ergaben, obwohl sie bei der Deplasmolyse unwirksam waren, umgekehrt aus einer Summation. Indessen ist es auch möglich, daß die Koleoptilen gegenüber Phenylessigsäure empfindlicher sind als der *Rhoeo*-Protoplast. Übereinstimmung lag aber darin, daß die maximale Förderung auch im *Avena*-Test bei 10^{-5} lag.

4. Colchicin. Die Wirkungen einer Colchicinbehandlung ähneln in manchem den durch H.A. hervorgerufenen. So ist das Auftreten von „Keulenwurzeln" schon lange bekannt. Nach MAIROLD (1943) wirkt

Colchicin auf das Wachstum von Lupinenwurzeln in den Konzentrationen von etwa 10^{-3}—$5 \cdot 10^{-4}$ hemmend, bei stärkerer Verdünnung (10^{-5}) aber wachstumsfördernd. Wichtiger für uns ist, daß MAIROLD bei *Allium* und *Spirogyra* eine Verkürzung der Plasmolysezeit nach Vorbehandlung mit Colchicin 0,4% fand. WEISSENBÖCK (1950) stellte soeben eine starke Verkürzung der Plasmolyse- und der Deplasmolysezeit an Spaltöffnungsmutterzellen von Keimlingsblättern fest, die er mit Colchicin behandelt hatte. Er führt diesen Effekt auf eine Viskositätsabnahme zurück.

Tabelle 6. *Colchicin.*

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
24. 9. 49	0,60	1,50	1,50	1,80	1,00
26. 9. 49	0,50	1,16	1,16	1,40	1,00
27. 9. 49	0,60	1,40	1,45	1,68	1,02
28. 9. 49	0,61	1,33	1,40	1,60	1,00

Wie Tabelle 6 zeigt, wirkt Colchicin auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas tatsächlich wie ein Wuchsstoff ein. Die Konzentrationen 10^{-4}—10^{-6} beschleunigen die Deplasmolyse in steigendem Maße, 10^{-3} bewirkt eine deutliche Hemmung und 10^{-7} bleibt wirkungslos. Auch hier dürften also zwei gegenläufige Prozesse vorliegen, von denen der eine vielleicht in einer Auxinaktivierung besteht. Unsere Befunde stimmen also mit den Ergebnissen von MAIROLD gut überein. REESE (1950) fand eine optimale Stimulation des Längenwachstums von Hypokotylen *(Lepidium, Petroselinum)* bei einer Konzentration von 10^{-4}; dagegen hemmte Colchicin 10^{-2}, zum Teil auch 10^{-3} diese Objekte. Soweit herrscht also sowohl mit MAIROLD als mit uns Übereinstimmung. Im Gegensatz zu MAIROLD fand REESE aber auch das Wurzelwachstum sowohl in niederen als auch in hohen Konzentrationen (0,01%) gefördert; auch konnte er mit Colchicin weder im *Avena*-Test noch an *Helianthus*-Keimlingen Krümmungen erzielen. Er schließt daraus, daß Colchicin im Endeffekt eine wuchsstoffähnliche Wirkung haben könne, daß diese aber auf ganz anderem Wege zustande komme. Nach seinen Ergebnissen sei an eine Auxinaktivierung durch Colchicin nicht zu denken. Ob dieser Schluß zutrifft oder nicht, können erst weitere Untersuchungen entscheiden.

5. Vitamin C. RAADTS (1949) beobachtete, daß Vitamin C in den Konzentrationen 10^{-5}—10^{-7} einen fördernden Einfluß auf das Wachstum von Koleoptilzylindern hat; er führt diesen auf Auxinaktivierung zurück. Wir prüften den Einfluß dieses Vitamins auf die Wasserpermeabilität erst unter Verwendung eines Stranddornbeerenextraktes *(Hippophaë rhamnoides)*, den wir nach den Angaben von MOEWUS (1949) herstellten.

15 g reife Beeren wurden im Mörser mit gereinigten Seesand und 15 cm³ destilliertem Wasser verrieben. Nach Absaugen wurden 20 cm³ Filtrat erhalten, das die Ausgangslösung darstellte. Durch Verdünnen im Verhältnis 1:10 wurden dann die in der Tabelle 7 angeführten Konzentrationen erhalten. Wie man sieht, bewirkte der auf 10^{-1} verdünnte Extrakt in den Versuchen teils eine Zerstörung des Protoplasten (+), teils verhinderte er den völligen Rückgang der Plasmolyse (—). Die Protoplasten erfuhren starke Veränderungen. Sie wiesen abnorme Konturen auf und verhielten sich bei der Zerstörung wie solche in H.A. 10^{-3}. Die Konzentration 10^{-2} bewirkt eine beträchtliche Verzögerung des Plasmarückganges, wogegen zwischen 10^{-3} und 10^{-5} eine Förderung eintritt, die ihren Höhepunkt bei 10^{-4} erreicht; bei 10^{-6} erlischt der Effekt.

Tabelle 7. *Stranddornbeerenextrakt.*

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
2. 10. 49	±	0,65	1,50	1,82	1,33	1,02

Der hohe Gehalt an Ascorbinsäure, den Stranddornbeeren aufweisen, machte es wahrscheinlich, daß diesem Stoff die beschriebene Wirkung zukomme. Wir arbeiteten daraufhin mit reinem Vitamin C. Als Ausgangslösung wählten wir n/10 Ascorbinsäure, da diese Lösung denselben p_H-Wert wie der Beerenextrakt besaß. Die Ausgangslösung enthielt demnach die Konzentration $1{,}76 \cdot 10^{-2}$; von ihr wurden die Verdünnungen 1:10 wie üblich hergestellt, so daß die erste Verdünnungsstufe rund 10^{-3} g/cm³ Ascorbinsäure enthielt.

Diese Konzentration zerstörte die meisten Protoplasten schon nach 2—4 min; der Zellsaft lief aus. Die Konzentrationen 10^{-5}—10^{-7} wirken fördernd auf die Deplasmolyse, das Maximum liegt bei 10^{-5}; 10^{-4} und 10^{-8} gleichen im Effekt den Kontrollen (Tabelle 8). Wieder aber wird man annehmen müssen, daß bei 10^{-4} zwei Effekte, ein fördernder und ein hemmender, sich kompensieren, während 10^{-8} einfach infolge zu hoher Verdünnung unwirksam wird.

Vergleichen wir den Beerenextrakt mit der reinen Ascorbinsäure, so entsprechen die Extraktkonzentrationen 10^{-4} und 10^{-5} etwa den Vitamin C-Konzentrationen 10^{-5}—10^{-6}. Der Extrakt wirkte also schwächer als die angewandten Säurekonzentrationen, was auch daraus hervorgeht,

Tabelle 8. *Vitamin C.*

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
8. 10. 49	+	1,02	1,46	1,38	1,19	1,05
12. 10. 49	+	1,00	1,43	1,25	1,11	1,01
14. 10. 49	+	1,10	1,66	1,59	1,10	1,00

daß er bei 10^{-1} die Protoplasten nicht immer zerstörte. Es ist aber auch möglich, daß der Beerenextrakt einen weiteren hemmenden Stoff enthält, der als Antagonist der Ascorbinsäure auftritt und deren schädigende Wirkung herabsetzt. Das würde auch erklären, daß es beim Extrakt eine hemmende Konzentration (10^{-2}) gibt, die der reinen Lösung fehlt. Auch bei Verwendung der Ascorbinsäure können die Effekte nicht durch Schwankungen im p_H-Wert erklärt werden, denn dieser änderte sich in den wirksamen Konzentrationen 10^{-4}—10^{-7} nur sehr wenig.

Unser Ergebnis deckt sich gut mit den Angaben von RAADTS (1949). da die von ihm untersuchten Koleoptilzylinder durch die Konzentrationen 10^{-5}—10^{-7} durch Wasseraufnahme im Wachstum gefördert wurden, wobei, wie bei uns, die Wirkung schließlich abnahm. Den fördernden Einfluß beobachtete RAADTS nur in den ersten $2^1/_2$ Std. Nach der 5. Std setzte eine Hemmung ein, die lange Zeit unverändert erhalten blieb.

b) Wachstumshemmende Stoffe.

1. Cumarin. Daß Cumarin ein spezifischer Hemmstoff ist und „Blastocolin"-Eigenschaften besitzt, fanden VELDSTRA und HAVINGA (1943) bei Versuchen mit Kressesamen. Schon in einer Konzentration von 10^{-3}—10^{-4} verhinderte Cumarin die Keimung dieser Samen völlig. Etwa gleichzeitig zeigten KUHN und JERCHEL (1943), daß dieser Stoff die Keimung der Pollenschläuche von *Antirrhinum majus* und die Vermehrung einiger Bakterien und Hefen unterdrückt. Schließlich fand MOEWUS (1949), daß Cumarin auch das Streckungswachstum von Kressewurzeln hemmt, und zwar innerhalb des Konzentrationsbereiches 10^{-3}—10^{-6} g/cm³. Mit Hilfe der Pastenmethode wies dieser Autor auch eine Wachstumshemmung bei *Avena*-Koleoptilen nach; bei einer dargebotenen Konzentration von 10^{-3} vollführten diese positive Krümmungen.

Diese Angaben veranlaßten uns, den Einfluß des Cumarins auf die Wasserpermeabilität mit Hilfe unserer Methode zu prüfen. Wir verfuhren wie in den früheren Versuchen, d. h. wir setzten das Cumarin in abgestuften Konzentrationen den Mannitlösungen zu. Über den Plasmolyseverlauf ist weiter nichts auszusagen, da er in den Versuchslösungen in gleicher Weise wie in den Kontrollösungen vor sich ging. Bei der Deplasmolyse hingegen tritt, wie aus der Tabelle 9 hervorgeht, überall eine permeabilitätshemmende Wirkung auf. Schon am Ende der 5. min ist die Hemmung des Wassereintrittes eine sehr weitgehende. Während bei der Kontrolle nur mehr die Hälfte der Zellen plasmolysiert ist, sind es in den Cumarinlösungen noch 80—90%. Im weiteren Verlaufe zeigt sich, daß in Cumarin 10^{-3} auch nach 100 min die große Mehrzahl der Protoplasten die Zellwand nicht erreicht hat, also wohl Dauerplasmolyse eingetreten ist. Auch in der Konzentration 10^{-4} dauert es sehr lange bis

20. 6. 49. Tabelle 9. *Deplasmolyse.*

Zeit min	Kontrolle	Versuch mit Cumarin		
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
5	51	90	90	80
10	39	88	82	68
15	29	88	70	46
20	25	86	65	31
25	22	85	55	26
30	10	71	45	15
37	0	71	40	7
40		71	15	0
45		71	8	
50		70	0	
100		70		
100% Deplasmolyse nach	37 min	—	50 min	40 min

alle Zellen deplasmolysiert sind. Während dieser Zustand in der Kontrolle schon nach 37 min eintritt, sind zu dieser Zeit noch 40% der mit Cumarin behandelten Zellen plasmolysiert. Etwas schneller erfolgt der Wassereintritt bei 10^{-5}. Wie man sieht, deckt sich der Konzentrationsbereich, der die Wasserpermeabilität herabsetzt, etwa mit dem, den die früher genannten Autoren bei ihren Versuchen fanden.

Weitere Versuche, bei denen das Tk/Tv-Verhältnis geprüft wurde, ergaben das in Tabelle 10 enthaltene Resultat. Die Verzögerung der Deplasmolyse in Cumarin 10^{-3} war hier sehr groß. Doch erreichten alle Protoplasten mit Ausnahme des Versuches vom 20. 6. schließlich wieder die Zellwände. Auch jetzt war die Hemmung in 10^{-4} viel ausgiebiger als in 10^{-5}, und in einigen Fällen fehlte sie in 10^{-5} ganz; ebenso stets, wenn wir die Konzentration 10^{-6} zur Anwendung brachten.

Tabelle 10. *Cumarin.*

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
21. 3. 49	0,25	0,60	0,91	1,00
26. 3. 49	0,23	0,66	1,00	1,00
27. 3. 49	0,16	0,55	0,70	1,00
29. 3. 49	0,33	0,54	1,00	1,00
20. 6. 49	—	0,76	0,96	1,00

Ein sehr auffälliger Unterschied gegenüber H.A. und den andern wachstumsbeschleunigenden Stoffen liegt darin, daß in keiner Konzentration ein Umschlag der Wirkung eintrat, und daß diese mit *steigender* Konzentration zunimmt. Cumarin wirkt also immer hemmend. Vermutlich liegt eine durch diesen Stoff bewirkte Viskositätserhöhung vor, deren Ausmaß von der Konzentration abhängt, und die schließlich bei

zu hoher Verdünnung unterbleibt. Wenn in der Lösung 10^{-3} in den ersten Versuchsserien Dauerplasmolyse eintrat, so erklärt sich dies wohl in der gleichen Weise, wie die gelegentliche Dauerplasmolyse in H.A. 10^{-4}.

Wenn also Cumarin das Streckungswachstum hemmt, so ist das so zu verstehen, daß der für diesen Vorgang notwendige Wassereintritt in die Zellen behindert wird. Bei einseitiger Darbietung, so im Koleoptilenversuch von MOEWUS, muß es zu positiver Krümmung kommen, da die behandelte Seite weniger Wasser in die Zellen aufnimmt als die unbehandelte. Das Cumarin wirkt zweifellos unmittelbar auf das Plasma ein und nicht etwa durch eine Inaktivierung des Auxins. Dieses stellt einen selbständigen Antagonisten dar, wie aus den später zu schildernden Kompensationsversuchen hervorgeht. Bei der Betrachtung der Ergebnisse von MOEWUS fällt ferner auf, daß Cumarin 10^{-3} sowohl das Wachstum von Wurzeln als auch das von Koleoptilen hemmt. Vom Auxin hingegen ist bekannt, daß Konzentrationen, die das Wurzelwachstum hemmen (etwa H.A. 10^{-6}) das Wachstum der Koleoptilen fördern. Unsere Beobachtung, daß Cumarin in allen Konzentrationen hemmt, macht das Ergebnis von MOEWUS aber verständlich. Würde durch Cumarin das Auxin inaktiviert, so wäre an Wurzeln eine Wachstumsbeschleunigung zu erwarten; daß dies nicht zutrifft, ist ein weiterer Beweis für die unmittelbare Wirkung dieses Stoffes.

Tabelle 11. *Tomatenextrakt.*

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
4. 9. 49	0,33	0,66	1,00
6. 9. 49	0,40	1,00	1,00
7. 9. 49	0,50	1,00	1,00

2. Tomatenextrakt. Nach LARSEN (1939) besitzen Tomaten verschiedene keimungs- und wachstumshemmende Stoffe. Dies veranlaßte uns, zu untersuchen, ob diese Stoffe die Deplasmolysegeschwindigkeit verändern. LARSEN hatte aus Tomatenpreßsaft Ätherauszüge hergestellt und diese fast bis zur Trockene eingedampft. Die resultierende dunkelrote, sich fettig anfühlende Masse nahm er in Lanolin auf und testete diese Paste an *Avena*-Koleoptilen; er erhielt dabei positive Krümmungen. Für unsere Plasmolyseversuche benötigten wir aber eine wäßrige Lösung. Daher zerrieben wir 100 g reife Tomaten in 50 cm³ destillierten Wassers und sogen nach 24 Std den Extrakt durch eine Nutsche ab. Das erhaltene Filtrat wurde auf 10 cm³ eingeengt und stellte unsere Ausgangslösung dar. Die Verdünnung 10^{-1} (Tabelle 11) bewirkte eine sehr deutliche Hemmung der Wasseraufnahme. Schon in 10^{-2} erfolgte ein starker Abfall, da nur noch in einer Versuchsserie eine Hemmung zu beobachten war; 10^{-3} blieb wirkungslos. Der Tomatenextrakt enthält also einen die Wasserpermeabilität herabsetzenden Hemmstoff, der offenbar nur in verhältnismäßig hoher Konzentration wirksam ist.

Nach AKKERMAN und VELDSTRA (1947) enthalten die Früchte hemmende Ferula- und Kaffeesäure. Wir konnten dies bestätigen, fanden aber noch weitere nicht saure Hemmstoffe, die im Gegensatz zu den ersten die Entwicklung von Staphylokokken hemmen.

3. Benztetronsäure. Die uns von Heidelberg freundlichst überlassene Substanz wirkt nach MOEWUS (1949) im Kressewurzeltest als Hemmstoff. Unsere mit warmem Wasser hergestellte Ausgangslösung entsprach einer Verdünnung von 10^{-3}. Diese Konzentration hemmt die Deplasmolyse völlig (Dauerplasmolyse) oder zerstört den Protoplasten. Die Verdünnungen 10^{-4} und 10^{-5} verlangsamen den Wassereintritt in abnehmendem Maße, bei 10^{-6} erlischt der Effekt (Tabelle 12). Der hemmende Einfluß dieses Stoffes beim Kressewurzeltest spielt sich nach MOEWUS im gleichen Konzentrationsbereich ab.

Tabelle 12. *Benztetronsäure.*

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
22. 11. 49	+	0,40	0,80	1,00
23. 11. 49	+	0,33	0,70	0,90
24. 11. 49	—	0,35	0,71	0,98

4. Ferulasäure. Auch die Ferulasäure erhielten wir aus Heidelberg. Sie wird unter anderem in *Ferula asa foetida* und in verschiedenen Coniferen gefunden. Wir stellten uns durch Erwärmen in Wasser eine Stammlösung 10^{-3} her. Diese Konzentration (Tabelle 13) zeigte eine sehr starke, 10^{-4} eine geringere Hemmung. Bei 10^{-5} und 10^{-6} verschwindet die Wirkung. Ferulasäure erweist sich also in Deplasmolyseversuchen als typischer Hemmstoff.

Tabelle 13. *Ferulasäure.*

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
20. 11. 49	0,45	0,69	1,00	1,00
23. 11. 49	0,50	0,76	1,00	1,00
25. 11. 49	0,47	0,77	0,96	1,00

5. Parasorbinsäure. Die Parasorbinsäure wird aus Vogelbeeren gewonnen und wirkt auf die Keimung der Samen dieser Früchte hemmend ein. Überdies hemmt sie auch das Streckungswachstum. Sie ruft nach MOEWUS (1949) — als Paste geboten — in der Konzentration 10^{-3} an *Avena*-Koleoptilen positive Krümmungen hervor.

Zur Herstellung einer Stammlösung wurde ein Teil Parasorbinsäure in 10 Teilen Wasser aufgelöst (= 10^{-1}). Die Säure erhielten wir durch die Freundlichkeit von Herrn Dr. MOEWUS aus den Beständen des Max-Planck-Institutes für medizinische Forschung in Heidelberg, wofür wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen.

Tabelle 14. *Parasorbinsäure.*

	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
11. 11. 49	+	0,26	0,75	1,00
14. 11. 49	+	0,31	0,78	0,98
17. 11. 49	+	0,31	0,76	0,99

Wie aus der Tabelle 14 hervorgeht, wirkt die genannte Säure auch bei Deplasmolyseversuchen als typischer Hemmstoff. In der Konzentration 10^{-2} zerstörte sie die Protoplasten schon bei der Plasmolyse nach 20—25 min. Am scharf konturierten Protoplastenrand bildeten sich zunächst aus Mikrosomen kleine Bläschen (Abb. 2,2). Nach der angegebenen Zeit zerplatzte dann der Protoplast schlagartig. Für Deplasmolysestudien mußten die Schnitte daher zunächst ohne den Wirkstoff plasmolysiert werden. Beim Übertragen solcher Schnitte ins Deplasmolytikum mit Parasorbinsäure 10^{-2} zerplatzten die Protoplasten aber auch, und zwar schon nach 1—10 min.

Diese Zerstörung wurde an *Allium*- und *Rhoeo*-Zellen genau studiert und gezeichnet (Abb. 1, 2 und 2, 2). Bei beiden Objekten sammeln sich 2—3 min nach Deplasmolysebeginn die erwähnten Bläschen am Protoplastenrand an. Gegenüber den bei normaler Deplasmolyse sichtbaren kleinen und runden Mikrosomen sind sie stark vermehrt, vergrößert und abgeplattet. Die in H.A. 10^{-3} bei *Allium* beobachtete Kappenbildung fehlt gänzlich. Das Zerplatzen erfolgt bei beiden Objekten an einer begrenzten Stelle des Protoplasten, indem am Scheitelpunkt der Plasmawölbung eine Öffnung auftritt, aus der der Zellsaft ausströmt; der Tonoplast sinkt dann langsam in sich zusammen. Der Zerstörungsvorgang ist also ein ganz anderer als beim H.A. Man gewinnt den Eindruck, daß es sich schließlich nicht wie bei diesem um eine Auflösung des Plasmas handelt, vielmehr durch Viskositätserhöhung die elastische Dehnbarkeit der Plasmahäute stark herabgesetzt ist. Wie erwähnt, erfolgt die Zerstörung bei der Deplasmolyse wesentlich schneller als bei der Plasmolyse. Das erklärt sich wohl wieder daraus, daß eindringendes Wasser die Spannung des Protoplasten erhöht, während der Wasserentzug im Plasmolytikum die Spannung herabsetzt.

Die Konzentrationen 10^{-3} und 10^{-4} hemmen sehr stark, 10^{-5} bleibt fast wirkungslos. Diese Ergebnisse entsprechen gut denen, die Moewus (1949) bei Einwirkung von Parasorbinsäure auf das Wachstum von Kressewurzeln erhielt. Auch dort erlischt die Wirkung bei der Konzentration 10^{-5}; andererseits bewirkt 10^{-2} eine völlige Hemmung des Wachstums.

Weitere Versuche wurden mit Ebereschenbeerenextrakt durchgeführt. Dieser wurde wie der Stranddornextrakt hergestellt und ergab folgende Ergebnisse (Tabelle 15).

Tabelle 15. *Ebereschenextrakt.*

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
27. 9. 49	—	0,61	0,72	1,00
30. 9. 49	—	0,63	0,70	1,00
1. 10. 49	—	0,62	0,71	1,00

In der Verdünnung 10^{-1} erhielten wir stets Dauerplasmolyse, aber niemals Plasmazerstörung. Vermutlich wirken auch hier wie beim Stranddornextrakt weitere im Extrakt anwesende Stoffe antagonistisch und damit schützend auf den Protoplasten. Beim Vergleich der Tabelle 14 mit Tabelle 15 ist zu beachten, daß bei der ersten die Konzentrationen g/cm³ bedeuten, während die Zahlen der zweiten nur die Verdünnung des Saftes angeben; die Werte sind also nicht unmittelbar vergleichbar.

6. Äthylen. Wie aus zahlreichen Untersuchungen bekannt ist, übt Äthylen die verschiedensten Wirkungen auf Wachstum und Entwicklung der Pflanzen aus. In Keimungs- und Treibversuchen (Samen, Laubknospen, Kartoffeln usw.) wurde mit Äthylen meist Förderung, unter Umständen aber auch Hemmung in Abhängigkeit von Konzentration und Einwirkungsdauer beobachtet. Das Streckungswachstum dagegen wird stets mehr oder minder gehemmt, wobei der Grad der Hemmung weniger von der angewandten Äthylendosis, als von der Empfindlichkeit der Pflanzen gegenüber diesem Stoff abhängt. So werden z. B. Leguminosen- und Cruciferenkeimsprosse sehr stark gehemmt, viel weniger *Helianthus*-Hypokotyle, am wenigsten Koleoptilen. Die Wirkung des Äthylens ist zweifellos eine komplexe, unter anderem auch deshalb, weil es die Atmung stark beeinflußt. v. Guttenberg und Steinmetz (1947) stellten vor kurzem fest, daß Äthylen das Auxin (nicht aber H.A.) inaktiviert, indem es eine irreversible Blockierung dieses Stoffes bewirkt. Schon früher vertrat v. Guttenberg die Ansicht (1936), daß auch die Unterdrückung des Geotropismus bei der sog. horizontalen Nutation auf Auxinverlust beruht. Die auffällige Verdickung der Keimsprosse fände eine Erklärung, wenn man annimmt, daß durch Permeabilitätserhöhung bis dahin lokal gebundene Hemmstoffe frei würden. In der Tat ist der Hemmstoffgehalt der Keimlinge, die stark auf Äthylen reagieren (z. B. Leguminosen) groß, bei den kaum reagierenden Koleoptilen sehr gering und z. B. bei *Helianthus* mittelgroß. Zur weiteren Klärung der Frage nach der Äthylenwirkung schien es erwünscht, auch hier die Frage der Wasserpermeabilität zu prüfen.

Die Ausgangslösung wurde nach Ruge (1947) folgendermaßen hergestellt: Durch 100 cm³ Leitungswasser wurde bei 17° C 30 min lang äthylenhaltiges Leuchtgas langsam hindurchgeschickt. Diese Lösung wurde als gesättigt angesehen und enthielt demnach nach den Tabellen

von LANDOLT-BÖRNSTEIN 0,0158 g Äthylen. Durch weiteres Verdünnen wurden dann die Konzentrationen 10^{-1}—10^{-6} hergestellt. Nach RUGE stellt das Äthylen die einzige physiologisch wirksame Komponente des Leuchtgases dar. Die in der Tabelle 16 eingetragenen Konzentrationen sind denen von RUGE unmittelbar entsprechend. In Wirklichkeit entspricht unsere Verdünnung 10^{-1} der absoluten Konzentration von $1{,}58 \cdot 10^{-5}$ g/cm³.

Tabelle 16. *Äthylen.*

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
8. 10. 49	1,50	1,87	2,14	2,08	1,00
10. 10. 49	1,66	1,85	2,15	2,08	1,10
11. 10. 49	1,52	2,04	2,20	2,05	1,00

Wie aus der Tabelle 16 hervorgeht, wirkt Äthylen in allen geprüften Konzentrationen permeabilitätserhöhend, das Wirkungsmaximum liegt bei 10^{-3}—10^{-4}. Erst bei 10^{-5} ($= 10^{-9}$ g/cm³) erlischt die Wirkung. Wichtig ist, daß auch 10^{-1} den Wassereintritt noch erleichtert, und daß nirgends ein Umschlag in eine Hemmung eintritt. Damit stimmt gut überein, daß RUGE bei Keimungsversuchen bei dieser Konzentration noch eine, wenn auch geringe Keimungsbeschleunigung beobachtete. Bei seinen Versuchen bewirkten die Verdünnungen 10^{-3}—10^{-6} eine wesentliche Erhöhung der Keimschnelligkeit, weniger eine Vermehrung der Keimfähigkeit. Er sieht daher das Äthylen nicht so sehr als einen keimungsauslösenden als einen keimungsbeschleunigenden Stoff an. Wir vermuten jetzt, daß die beobachtete Beschleunigung durch Erhöhung der Wasserpermeabilität zustande kommt.

Da wir auch in mit Äthylen gesättigtem Wasser keine Hemmung erzielen konnten, versuchten wir, ob eine solche eintritt, wenn man die Zeitdauer der Einwirkung verlängert. Wir ließen daher Schnitte in gesättigtem Äthylenwasser bis zu 70 Std lang liegen. Anschließendes Plasmolysieren und Deplasmolysieren ergab aber, daß die Deplasmolysezeit immer noch geringer war als die der Kontrollen. Die Wirkung des Äthylens auf das Plasma ist also zweifellos eine ganz spezifische. An Auxinbefreiung, wie wir sie vor allem für das H.A. annahmen, ist hier keinesfalls zu denken; vielmehr blockiert, wie oben ausgeführt wurde. Äthylen das Auxin, und es hemmt das Wachstum. Die nunmehr nachgewiesene Permeabilitätserhöhung könnte aber tatsächlich zu einer ungeregelten Ausbreitung von Hemmstoffen führen und auf diese Weise die auffällige Wachstumshemmung bewirken. Versuche zur Klärung dieser Frage sind im Gange.

Unsere Äthylenversuche sind auch deshalb interessant, weil sie lehren, daß nicht jede Permeabilitätserhöhung mit einer Wachstumsbeschleunigung beantwortet wird. Das bestätigt die Annahme, daß

auch bei den wachstumsfördernden Stoffen die Erhöhung der Wasserpermeabilität nicht die einzige, sondern nur die erste beobachtbare Wirkung im Streckungsprozeß darstellt. Die Richtigkeit dieser Ansicht wird besonders auch durch die Kombinationsversuche Äthylen + H.A. gestützt, die später zur Sprache kommen werden.

c) Weitere Wirkstoffe.

Von weiteren Wirkstoffen wurden wegen ihrer allgemeinen Bedeutung Penicillin und das Unkrautvernichtungsmittel 2-4-Dichlorphenoxyessigsäure in ihrer Wirkung auf die Plasmapermeabilität untersucht.

1. Penicillin. Penicillin wurde als Calciumsalz derartig in 10 cm^3 Wasser gelöst, daß die Lösung 50000 OE. je Kubikzentimeter enthielt. Keine der geprüften Verdünnungen 10^{-1}—10^{-6} ließ einen Einfluß auf die Deplasmolysezeit erkennen. Somit wird durch Penicillin die Wasseraufnahme des Protoplasten nicht beeinflußt. Der Wirkungsmechanismus dieses Stoffes muß also von ganz anderer Art sein als der der bisher beschriebenen Stoffe. Eine Wachstumshemmung an Maiswurzeln, die BEIN, SIGNER und SCHOPFER (1947) durch Penicillin erhielten, wird von diesen nicht auf diesen Stoff selbst zurückgeführt, sondern auf H.A., das als Stoffwechselendprodukt des Pilzes dem Penicillin anhaftete.

2. 2-4-dichlorphenoxyessigsaures Natrium. Die Ausgangslösung 10^{-3} wurde durch Erwärmen von 2-4-dichlorphenoxyessigsaurem Natrium in destilliertem Wasser hergestellt. Die geringe Wasserlöslichkeit der Substanz gestattete keine höhere Konzentration. Im Konzentrationsbereich 10^{-3}—10^{-6} ergab sich keinerlei Einfluß auf die Deplasmolyse der *Rhoeo*-Protoplasten. Da die abtötende Wirkung des 2-4-dichlorphenoxyessigsauren Natriums besonders an Cruciferenunkräutern beobachtet wurde und Monokotyledonen mehr oder weniger verschont bleiben, war denkbar, daß *Rhoeo* kein geeignetes Untersuchungsobjekt sei. Daher verwendeten wir für weitere Versuche Rotkohlepidermen, die sich leicht in Deplasmolyseversuchen studieren lassen. Das Ergebnis war aber wieder ein negatives, nur beobachteten wir an Rotkohlschnitten eine Farbänderung von Rotblau nach Blauviolett. Nach den Ergebnissen ausländischer Arbeiten, die nur in Referaten zugänglich waren, wirkt sich 2-4-dichlorphenoxyessigsaures Natrium innerhalb der Zellen aus, z. B. in der Mobilisierung von Kohlenhydraten oder im Stickstoffumsatz. Solche dürften von der Permeabilität unabhängig sein. Auch 2-4-5-trichlorphenoxyessigsaures Natrium und scatylsulfosaures Natrium erwiesen sich in unseren Versuchen als unwirksam.

d) Kalium und Calcium.

Zur Ergänzung unserer Studien untersuchten wir auch den Einfluß eines einwertigen und eines zweiwertigen Kations auf die Wasser-

permeabilität unseres Versuchsobjektes. Das geschah besonders deshalb, weil wir Kationen als Antagonisten verschiedener Wirkstoffe verwenden wollten. Als Ausgangslösung dienten 1/1-normale KCl- und $CaCl_2$-Lösungen, die im Verhältnis 1:10 fortschreitend verdünnt wurden. Es entsprach also 10^{-1} einer 0,1-normalen Lösung.

Calcium (Tabelle 17) zeigte die zu erwartende Hemmung nur in den Konzentrationen 10^{-2} und 10^{-3}, wobei die Wirkung im zweiten Fall nur schwach verstärkt war. Bei 10^{-1} erfolgte ein Umschlag im Sinne einer schwachen aber deutlichen Förderung; 10^{-4} entsprach der Kontrolle.

Beim *Kalium* (Tabelle 18) ist ab 10^{-3} eine Beschleunigung des Wassereintrittes zu beobachten, die bis 10^{-6} ansteigt und bei 10^{-7} plötzlich aufhört. Einen Umschlagpunkt in stärkerer Konzentration gibt es hier nicht.

Tabelle 17. *Calciumchlorid.*

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
30. 8. 49	1,14	0,88	0,80	1,00
1. 9. 49	1,14	0,88	0,80	1,00
5. 9. 49	1,21	0,83	0,71	1,00
6. 9. 49	1,12	0,81	0,69	1,00
8. 9. 49	1,25	0,90	0,80	1,00

Tabelle 18. *Kaliumchlorid.*

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
10. 9. 49	1,00	1,00	1,11	1,33	1,33	1,60	1,00
11. 9. 49	1,00	1,00	1,10	1,11	1,25	1,66	1,00
14. 9. 49	1,00	1,00	1,10	1,22	1,38	1,83	1,00
15. 9. 49	1,00	1,00	1,11	1,11	1,42	1,66	1,00
17. 1. 50	1,00	1,00	1,02	1,20	1,54	1,80	1,00

Unsere Versuchsergebnisse stimmen im Prinzip gut mit den von DE HAAN (1935) erzielten überein. Ein unmittelbarer Vergleich ist nicht möglich, da DE HAAN nicht mit den Chloriden, sondern mit den Nitraten von Ca und K arbeitete, da er ferner als Versuchsobjekt *Allium Cepa* und als Plasmolytikum Rohrzucker verwendete. Die Hemmung durch Ca^{++} in der Konzentration 10^{-3} war bei ihm etwas geringer und K^+ förderte schon bei 10^{-1}. Auch DE HAAN weist darauf hin, daß unter Umständen die Salzkonzentration dafür maßgebend sein kann, ob die Lösung quellend oder entquellend wirkt. Wir untersuchten dann, ob die permeabilitätssteigernde Wirkung des Kaliums im WENTschen *Avena*-Test Krümmungen herbeiführt. In der Tat waren an Haferkoleoptilen negative Krümmungen zu beobachten, wenn wir KCl 10^{-5} und 10^{-6} in Agar zur Anwendung brachten; die Wirkung war im zweiten Falle größer, was mit unseren Deplasmolyseversuchen übereinstimmt.

Auch trat die Krümmung bei 10^{-6} schon nach einer Stunde ein, während sie bei 10^{-5} erst nach etwa 2 Std deutlich wurde.

Daß durch Alkalisalze das Wachstum einerseits gefördert, andererseits gehemmt werden kann, hat schon BORRIS (1937, 1939) gezeigt. Hypokotyle von *Spergula arvensis* und *Silene coeli-rosa* erfuhren in verschiedenen K- und Na-Salzlösungen (Konzentration 10^{-2} und 10^{-3}) eine zum Teil mehr als 100%ige Wachstumsbeschleunigung, wogegen $CaCl_2$ das Streckungswachstum hemmte.

e) Kombinationsversuche.

Im folgenden soll über das Ergebnis einiger Kombinationsversuche berichtet werden. Sie wurden, wie wir schon eingangs bemerkten, in der Hoffnung durchgeführt, einen näheren Einblick in die Wirkungsweise der verschiedenen Stoffe zu gewinnen.

1. Kalium + Calcium. Zunächst prüften wir KCl und $CaCl_2$ nochmals einzeln, um exakt vergleichbare Werte zu erhalten. KCl ergab in der Konzentration 10^{-6} wieder die maximale Förderung des Wassereintrittes mit dem Quotienten $D = 1{,}65$, $CaCl_2$ in der Konzentration 10^{-3} die stärkste Hemmung mit $D = 0{,}50$. Dann mischten wir gleiche Mengen dieser Lösungen und setzten das Gemisch den Mannitlösungen zu.

Nach den Einzelergebnissen wäre zu erwarten gewesen, daß es auch jetzt noch zu einer Hemmung kommt; denn das Ca hatte beträchtlich stärker gehemmt, als das K gefördert. Wählen wir als Beispiel etwa eine Deplasmolysezeit der Kontrollen von 20 min, so hätte diese Zeit für K 12 min (20 : 12 = 1,66), für Ca 40 min (20 : 40 = 0,5) betragen. Im ersten Falle wäre eine Beschleunigung von 8 min, im zweiten eine Verzögerung von 20 min aufgetreten. Somit müßte im Gemisch eine Verzögerung von 12 min resultieren, wogegen das Ergebnis (Tabelle 19) eine völlige Kompensation war. Das ist um so auffallender, als das K in viel größerer Verdünnung geboten worden war als das Ca. Wir werden dieses Überwiegen des fördernden Einflusses auch bei anderen Kombinationsversuchen antreffen und dort näher besprechen.

Der physiologische Ionenantagonismus von Alkali- und Erdalkalisalzen wurde mehrfach in Modellversuchen untersucht (vgl. HÖBER 1924 und die dort zitierte Literatur). Auch hierbei wurde gefunden, daß sich die Salzwirkungen in Mischversuchen nicht einfach addieren, vielmehr

Tabelle 19. *KCl* 10^{-6} + $CaCl_2 10^{-3}$.

	KCl 10^{-6}	$CaCl_2$ 10^{-3}	KCl 10^{-6} + $CaCl_2$ 10^{-3}
1. 10. 49	1,60	0,50	1,00
3. 10. 49	1,66	0,52	1,00
6. 10. 49	1,60	0,47	1,14
7. 10. 49	1,71	0,52	1,03

jeweils ganz bestimmte und verschiedene Konzentrationen von beiderlei Stoffen sich in ihrer Wirkung z. B. auf die Quellung von Gelatine oder die Oberflächenspannung von Lecithinsolen aufheben.

2. Kalium + Heteroauxin. Wieder prüften wir die beiden Stoffe nochmals einzeln und erhielten mit KCl 10^{-6} den Quotienten $D = 1{,}76$. Heteroauxin wandten wir als Antagonisten in der *hemmenden* Konzentration 10^{-4} an, die jetzt, im Oktober, die Protoplasten nicht zerstörte, sondern eine durchschnittliche Hemmung von 0,57 ergab. Die Hemmung war also auch hier beträchtlich stärker als die Förderung. Bei gemeinsamer Darbietung erfolgte ein weitgehender Ausgleich; der Durchschnittsquotient betrug 1,12 (Tabelle 20). Die fördernde Wirkung des Kaliums hatte also die hemmende des H.A. stärker überwunden als zu erwarten war.

Tabelle 20. *KCl 10^{-6} und Heteroauxin 10^{-4}.*

	KCl 10^{-6}	H.A. 10^{-4}	KCl 10^{-6} + H.A. 10^{-4}
15. 10. 49	1,70	0,62	1,20
18. 10. 49	2,00	0,44	1,00
19. 10. 49	1,75	0,70	1,10
21. 10. 49	1,60	0,53	1,18

Das ist im Prinzip das gleiche Ergebnis, das wir bei der Kombination K + Ca angetroffen hatten. Mangels einer näheren Kenntnis der Plasmastruktur ist es nicht möglich, für die Erscheinung eine sichere Erklärung zu geben. Wir möchten uns der schon früher erwähnten Vorstellung von Geiger-Sutter (1943) und Sutter (1944) anschließen, nach der sich das H.A. aus stark verdünnten Lösungen an bestimmte Reaktionsorte des Plasmas anlagert und erst dann im fördernden Sinne wirkt. Wir haben aber zusätzlich angenommen, daß das freie H.A. schädlich wirkt, wobei das Plasma an Durchlässigkeit einbüßt. Würden dieses freie H.A. und das K an verschiedenen Orten angreifen, so wäre eine einfache Summation der Effekte zu erwarten; dann würde nämlich H.A. an seinem Orte weiter hemmen, und ebenso K an seinem weiter fördern. Da aber keine Summation eintritt, vielmehr das K die hemmende Wirkung des H.A. fast kompensiert, ist anzunehmen, daß sie am gleichen Ort angreifen und sich hier in ihrer Wirkung beeinflussen. Aus dem Gesamtergebnis darf man wohl schließen, daß Kaligaben die schädigende Wirkung höherer H.A.-Konzentrationen aufheben.

3. Cumarin + Heteroauxin. In den Einzelversuchen ergab H.A. 10^{-7} mit einer Ausnahme nur die sehr mäßige Beschleunigung $D = 1{,}25$ (Tabelle 21). Die Versuche wurden im März durchgeführt, der geringe Wert ist vermutlich jahreszeitlich bedingt. Cumarin 10^{-4} ergab umgekehrt die besonders starke Hemmung $D = 0{,}44$. Es kann demnach nicht

Tabelle 21. *Cumarin 10^{-4} und Heteroauxin 10^{-7}.*

	H.A. 10^{-7}	Cum. 10^{-4}	Cum. 10^{-4} + H.A. 10^{-7}
22. 3. 49	1,28	0,42	0,90
27. 3. 49	1,25	0,50	1,00
28. 3. 49	1,75	0,40	0,90
29. 3. 49	1,25	0,44	0,80

überraschen, daß bei der Kombination die Hemmung dominierte, viel eher, daß diese nicht noch stärker ausfiel. Wieder finden wir also, daß sich die Förderung gegenüber der Hemmung durchsetzt. Im ganzen geht aus den Versuchen hervor, daß Cumarin und H.A. als Antagonisten wirken und wieder wird man annehmen dürfen, daß sie nicht unabhängig voneinander an verschiedenen Orten angreifen, sondern sich am gleichen Orte beeinflussen.

Einen Antagonismus zwischen H.A. und Cumarin stellte auch MOEWUS (1949) im Kressewurzeltest fest. Er untersuchte das Wurzelwachstum erst in getrennten, dann in kombinierten Lösungen und verglich die Ergebnisse mit dem Wachstum von Kontrollen in reinem Wasser. Aus seiner Versuchsreihe vom 8. 5. 47 z. B. geht hervor, daß Cumarin $0{,}5 \cdot 10^{-5}$ (Hemmung — 20%) zusammen mit H.A. $0{,}5 \cdot 10^{-9}$ (Förderung + 3%) gemischt eine Wachstumshemmung von — 15% ergab. Dieses Ergebnis entspricht fast der Berechnung. Eine solche einfache Summation trat, wie erwähnt, in unseren Versuchen nicht ein. Bei der gänzlichen Verschiedenheit der Methoden kann diese Differenz nicht überraschen. Wir prüften ja nur einen Primäreffekt der Wirkstoffe an isolierten Zellen, während MOEWUS den Wachstumsvorgang eines ganzen Organes studierte.

4. Cumarin + Avena-Wuchsstoff. Für diese Versuche verwendeten wir den schon früher beschriebenen Extrakt aus *Avena*-Koleoptilen; die Verdünnungsgrade sind also in gleicher Weise zu verstehen, wie bei den früheren *Avena*-Versuchen. Wir prüften zwei Konzentrationen, nämlich 10^{-7} mit der Wirkung $D = 1{,}15$ und 10^{-8} mit $D = 1{,}47$. Die Cumarinlösung ergab die Hemmung $D = 0{,}58$; diese war somit beträchtlich stärker als die Förderung.

Die Kombination des Cumarins mit der schwächer wirksamen Konzentration 10^{-7} (Tabelle 22) ergab demnach auch eine deutliche Hemmung. Dagegen fanden wir bei der Kombination mit Extrakt 10^{-8} keine solche mehr; vielmehr erfolgte vollständige Kompensation. Wieder finden wir also, daß keine einfache Summation der Effekte eintritt, vielmehr der fördernde Stoff überwiegt. Somit gilt auch hier, was wir früher ausführten.

5. Äthylen + Heteroauxin. In einer früheren Untersuchung (v. GUTTENBERG und STEINMETZ 1947) fanden wir, daß Äthylen das pflanzen-

Tabelle 22. *Avena-Wuchsstoff (A) 10^{-7}, 10^{-8} + Cumarin 10^{-4}.*

	A. 10^{-7}	A. 10^{-8}	Cum. 10^{-4}	A. 10^{-7} + Cum. 10^{-4}	A. 10^{-8} + Cum. 10^{-4}
28. 1. 50	1,11	1,42	0,55	0,77	1,02
31. 1. 50	1,20	1,56	0,55	0,77	1,00
1. 2. 50		1,43	0,64		1,03

eigene Auxin durch eine Art Blockierung inaktiviert, während es H.A. nicht beeinflußt. Es war daher interessant, die Kombination dieser beiden Stoffe zu prüfen, wobei das H.A. einmal in der *hemmenden* Konzentration 10^{-4} und einmal in der *fördernden* Konzentration 10^{-7} zur Anwendung kam. Unsere früheren Ergebnisse ließen den Schluß zu, daß die Hemmung bei hoher Konzentration ein reiner H.A.-Effekt ist, die Förderung aber aktiviertem Auxin zuzuschreiben sei; wenn dieses nun durch Äthylen blockiert wird, so müßte seine Wirkung ausfallen.

Tabelle 23. *Äthylen 10^{-3} + Heteroauxin 10^{-4}.*

	A. 10^{-3}	H.A. 10^{-4}	A. 10^{-3} + H.A. 10^{-4}
12. 10. 49	2,20	0,57	1,10

Wir kombinierten also erst (Tabelle 23) Äthylen 10^{-3} mit der stark *fördernden* Wirkung 2,20, mit H.A. 10^{-4}, das ein Tk/Tv-Verhältnis 0,57 zeigte, also stark *hemmte*. Der bei der Kombination erhaltene Wert betrug 1,10; diese schwache Förderung entspricht etwa dem Wirkungsverhältnis der angewandten Stoffe. Äthylen schaltet also die durch H.A. 10^{-4} bewirkte Hemmung vollständig aus. Somit liegt hier ein Fall vor, bei dem angenommen werden kann, daß jeder der beiden Stoffe an einem anderen Ort oder doch in ganz anderer Weise wirkt; dann ist ja, wie früher ausgeführt wurde, eine einfache Summation der Effekte zu erwarten.

Nun kombinierten wir die *fördernde* H.A.-Konzentration 10^{-7}, die hier den Quotienten 1,91 ergab, mit Äthylen 10^{-3}, dessen Quotient 2,17 war. Eine Summation dieser beiden Wirkungen hätte eine außerordentliche Beschleunigung des Wassereintrittes ergeben müssen. In Wirklichkeit fiel sie aber relativ gering aus, der Quotient betrug nur 2,62 (Tabelle 24). Dies stimmt vollkommen mit unserer Auffassung überein, daß die fördernde Wirkung des H.A. auf Auxinaktivierung beruht. Eine solche

Tabelle 24. *Äthylen 10^{-3} + Heteroauxin 10^{-7}.*

	A. 10^{-3}	H.A. 10^{-7}	A. 10^{-3} + H.A. 10^{-7}
13. 10. 49	2,17	1,91	2,62

konnte hier nur zum Teil eintreten, da, wie oben ausgeführt wurde, das Auxin größtenteils durch Äthylen inaktiviert wird.

BORRIS (1943) bot Keimlingen von *Agrostemma Githago* KCl in 1/50 mol-Lösung im Substrat und setzte sie gleichzeitig einer Äthylenatmosphäre aus. Die äthylenbedingte Wachstumshemmung der Hypokotyle wird dabei durch den Kalieinfluß stark herabgesetzt. Es ergab sich eine starke relative Wachstumsförderung, die freilich gegenüber der absoluten zurückblieb, die Pflanzen ohne Vergasung bei Kalizufuhr zeigen. Auch daraus geht hervor, daß die Wirkungen von Äthylen und Kali völlig verschieden sind. Insoferne entspricht dieser Kombinationsversuch dem Verhalten im Plasmolyseversuch, wenn H.A. in Äthylenwasser dargeboten wird. BORRIS studierte ferner das Verhalten von Hypokotylen in Äthylen nach Entfernung der Kotyledonen. In diesem Falle wird die Hemmwirkung des Gases stark herabgesetzt. Zu ganz ähnlichen Ergebnissen kam BORGSTRÖM (1939) bei andern dikotylen Keimlingen. Das Verhalten wäre nach unserer Auffassung folgendermaßen zu erklären: Die Kotyledonen liefern sowohl fördernde als auch hemmende Stoffe. Äthylen setzt die Wirkung der erstgenannten herab, wogegen die zweiten unbeeinflußt bleiben. Sie strömen also in den ganzen Pflanzen in das Hypokotyl ein, während sie bei Entfernung der Kotyledonen fortfallen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Untersuchung hatte es sich zur Aufgabe gestellt, den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas zu studieren. Als Versuchsobjekt dienten die violetten Epidermiszellen der Blattunterseite von *Rhoeo*. Beschleunigung oder Hemmung des Wassereintrittes wurde mit Hilfe der Deplasmolysezeitmethode gemessen. Als Plasmolytikum verwendeten wir Mannit, für den die Protoplasten impermeabel sind. Bei der Plasmolyse kam meist eine 0,3 molare, bei der Deplasmolyse eine 0,2 molare Lösung zur Anwendung. Diesen Lösungen wurden die zu prüfenden Wirkstoffe zugesetzt, deren Konzentration so gering war, daß sie den osmotischen Wert nicht veränderten. In einer folgenden Mitteilung wird gezeigt werden, daß alle beobachteten Effekte nicht durch Veränderung des p_H-Wertes bedingt, sondern spezifisch sind.

Zunächst wurden Stoffe geprüft, die das Streckungswachstum fördern, vor allem Heteroauxin, *Avena*-Extrakt und Phenylessigsäure, dazu noch Colchicin und Vitamin C. H.A. verkürzt in den Konzentrationen 10^{-5}—10^{-7} in steigendem Maße die Deplasmolysezeit, bei 10^{-7} beträgt diese nur mehr die Hälfte der Zeit der Kontrollen. In diesem Konzentrationsbereich erhöht also H.A. die Wasserpermeabilität. Bei 10^{-4} tritt ein plötzlicher Umschwung ein, es erfolgt eine sehr starke Hemmung, die sich in einer Verlängerung der Deplasmolysedauer etwa auf das Doppelte ausdrückt (Abb. 3). Manche Zellen zeigen jetzt infolge Schä-

digung Dauerplasmolyse, andere werden zerstört. Diese Zerstörung, die in einer Auflösung des Protoplasten besteht, tritt bei H.A. 10^{-3} stets ein.

Als Erklärung für das Gesamtverhalten wird folgende Hypothese aufgestellt. *Freies* H.A. wirkt viskositätserhöhend, hemmt den Wassereintritt und zerstört bei 10^{-3} das Plasma. Andererseits erhöht das *gebundene* H.A. die Wasserpermeabilität entweder dadurch, daß es Auxin durch Verdrängung freimacht oder indem es sich selbst verwandelt. Die beiden Prozesse überschneiden sich. In der Konzentration 10^{-4} wird die Auxinwirkung durch den stark hemmenden Einfluß des freien H.A. ganz überdeckt. Die Konzentration 10^{-5} zeigt einen gering fördernden Einfluß, der darauf beruht, daß die H.A.-Hemmung stark zurückgeht. In den Konzentrationen 10^{-6} und besonders 10^{-7} dominiert die permeabilitätserhöhende Wirkung, die Hemmung ist erloschen.

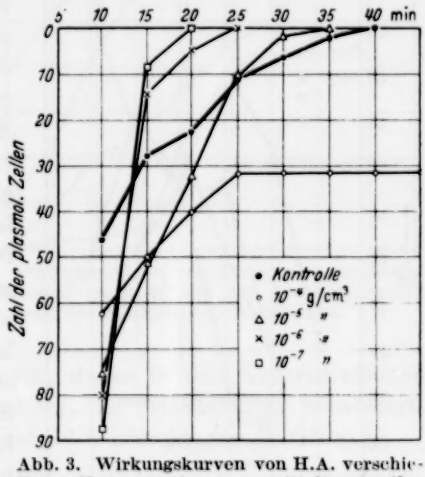


Abb. 3. Wirkungskurven von H.A. verschiedener Konzentrationen, ermittelt aus den Plasmolysezeiten nach der Methode von KACZMAREK (Zahlen = Prozente).

Avena-Wuchsstoff förderte den Wassereintritt in Konzentrationen, die den H.A.-Konzentrationen 10^{-5}—10^{-7} vergleichbar sind.

Phenylessigsäure erhöht die Wasserpermeabilität weniger als die beiden obengenannten Wuchsstoffe; das Wirkungsoptimum liegt bei 10^{-5}. Wie beim H.A. gibt es einen Umschlag zur Hemmung, und zwar bei der Konzentration 10^{-3}; dagegen bleibt 10^{-4} wirkungslos. Somit kann die für das H.A. gegebene Erklärung auch hier gelten. Colchicin verhält sich ähnlich. In der Konzentration 10^{-6} erfolgt die maximale Förderung des Wassereintrittes, in 10^{-3} tritt eine starke Hemmung auf. Auch die Ascorbinsäure schließt sich dieser Wirkungsweise an. Ihr Förderungsmaximum liegt bei 10^{-5}, in 10^{-3} erfolgt Plasmazerstörung. Die Förderung erlischt sowohl in 10^{-4} als auch in 10^{-8}. Hemmung konnten wir in der reinen Säure nicht beobachten, wohl aber in Stranddornbeerenextrakt 10^{-2}, der sich sonst ähnlich verhält.

Allen streckungsfördernden Stoffen ist also gemein, daß sie in bestimmten Verdünnungsgraden die Wasserpermeabilität erhöhen (Abb. 4). Mit Ausnahme des pflanzeneigenen *(Avena-)* Auxins schlägt die Wirkung bei einer gewissen höheren Konzentration um — die Wasserpermeabilität wird plötzlich stark herabgesetzt. Dies spricht dafür, daß die oben für

das H.A. gegebene Erklärung für alle diese Stoffe gilt, daß sie also an sich hemmen, aber, soweit sie gebunden werden, den Wassereintritt, vielleicht durch Auxinverdrängung, fördern. Zum mindesten steht fest, daß hier zwei gegenläufige Prozesse sich überschneiden. Bei *Avena*-Extrakten wurde ein hemmender Einfluß nie beobachtet, doch dürfte das nur daran liegen, daß es leider nicht möglich ist, höhere Konzentrationen zur Anwendung zu bringen.

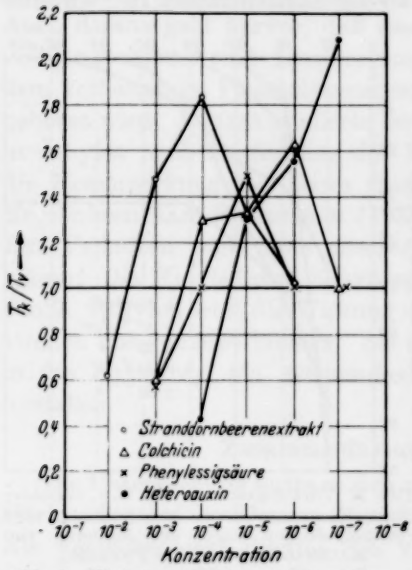


Abb. 4. Wirkungskurven wachstumsfördernder Stoffe von verschiedener Konzentration; ermittelt nach der Methode von DE HAAN.

Von typischen Hemmstoffen wurden vor allem Cumarin, Parasorbinsäure und Tomatenhemmstoff, daneben Benztetronsäure und Ferulasäure geprüft. Cumarin bewirkt im Konzentrationsbereich 10^{-3}—10^{-5} eine deutliche Hemmung des Wassereintrittes (Abb. 5). Das Maximum liegt bei 10^{-3}; diese Konzentration führt manchmal auch Dauerplasmolyse herbei. Ein Umschlag in eine fördernde Wirkung tritt bei keiner Konzentration ein. Parasorbinsäure verhält sich ähnlich. Stärkste Hemmung wurde in 10^{-3} beobachtet, Erlöschen der Wirkung bei 10^{-5}. In der Konzentration 10^{-2} werden die Protoplasten zerstört. Der Vorgang verläuft aber ganz anders als bei H.A. Während sich dort die Protoplasten zerfließend auflösen, tritt in der Parasorbinsäure ein Zerplatzen ein. Tomatenextrakt hemmt in stärkerer Konzentration den Wassereintritt erheblich, ebenso Benztetronsäure 10^{-4} und Ferulasäure 10^{-3}.

Allen diesen Hemmstoffen ist gemeinsam, daß sie die Wasserpermeabilität herabsetzen (Abb. 6). Im Gegensatz zu den früher genannten Wuchsstoffen zeigen sie niemals einen Umschlagpunkt, d. h. sie fördern in keiner Konzentration den Wassereintritt. Vielmehr nimmt ihre Wirkung einfach mit der Konzentration bis zu einem gewissen Maximum zu. Einen Sonderfall stellt das Äthylen dar, da es das Streckungswachstum sehr stark hemmt, aber die Wasserpermeabilität erhöht. Stärkste Förderung wurde im Konzentrationsbereich 10^{-5}—10^{-8} beobachtet, das Maximum liegt bei 10^{-7}. Eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität tritt in keiner Konzentration ein. In früheren Untersuchungen fanden wir, daß Äthylen das Auxin zum Teil inaktiviert. Es kann daher nicht

wundernehmen, daß trotz der beobachteten Permeabilitätserhöhung kein Wachstum eintritt. Die durch Äthylen bedingte Wachstumshemmung und Organverdickung beruht vermutlich darauf, daß sich infolge der Permeabilitätserhöhung Hemmstoffe ausbreiten, für die ein Antagonist nicht mehr vorhanden ist.

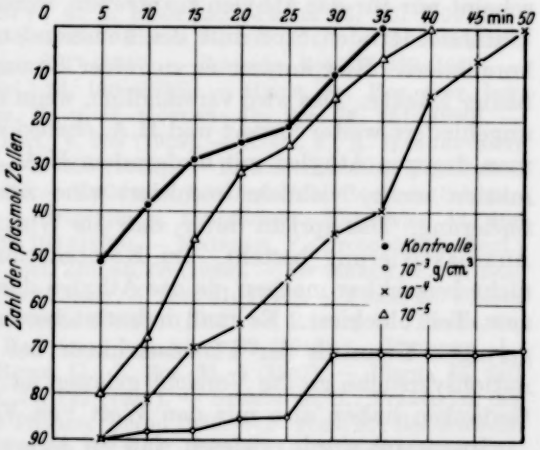


Abb. 5. Wirkungskurven von Cumarin verschiedener Konzentration; ermittelt aus den Plasmolysezeiten nach der Methode von KACZMAREK.

Penicillin und 2-4-Dichlorphenoxyessigsäure haben keinen Einfluß auf die Wasserpermeabilität.

Kaliumchlorid fanden wir in den Konzentrationen 10^{-3}—10^{-6} in steigendem Maße permeabilitätserhöhend; 10^{-2} und 10^{-7} sind wirkungslos. Bei $CaCl_2$ liegen kompliziertere Verhältnisse vor, da es in den Konzentrationen 10^{-2} und 10^{-3}, bei nur kleinem Anstieg, die Permeabilität herabsetzt, bei 10^{-1} dagegen fördert; schon bei 10^{-4} erlischt die Wirkung.

Kombinationsversuche hatten folgendes Ergebnis: KCl und $CaCl_2$ in der höchstfördernden und der höchsthemmenden Konzentration gemischt, heben sich in ihrer Wirkung praktisch auf. Da aber das Ca im Einzelversuch stärker hemmte als das K förderte, liegt ein Vorherrschen der Permeabilitätsförderung vor. Auch wenn man förderndes KCl mit der hemmenden H.A.-Konzentration 10^{-4} kombiniert, kommt es nicht zu einer einfachen Summation, vielmehr setzt sich wieder die Förderung stärker durch, als rechnerisch zu erwarten wäre. Das gleiche gilt für die Kombination von hemmendem Cumarin und förderndem H.A. oder Auxin. Die gleichzeitig gebotenen Stoffe wirken also zwar als Antagonisten, doch zeigt sich eine deutliche Dominanz der fördernden Stoffe. Man kommt dadurch zu der Auffassung, daß beiderlei Stoffe am *gleichen* Ort angreifen und sich hier in ihrer Wirkungsweise stören.

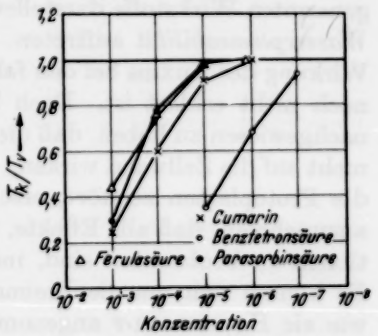


Abb. 6. Wirkungskurven wachstumshemmender Stoffe von verschiedener Konzentration; ermittelt nach der Methode von DE HAAN.

Einfache Summation der Effekte würde für verschiedene Angriffsorte sprechen, in denen die Prozesse ungestört voneinander verlaufen. Dies scheint nur für das Äthylen zuzutreffen, wenn man diesen stark permeabilitätsfördernden Stoff mit der hemmenden H.A.-Konzentration 10^{-4} kombiniert. Hier kommt es zu reiner Summation und zur Aufhebung beider Effekte. Das wird verständlich, wenn man annimmt, daß Äthylen ungehindert weiter fördert und H.A. ebenso weiter hemmt. Kombiniert man dagegen Äthylen mit förderndem H.A. 10^{-7}, so erfolgt keine Summation mehr, vielmehr resultiert eine nur wenig erhöhte Gesamtförderung. Das spricht dafür, daß die Wirkung des H.A. 10^{-7} in einer Auxinaktivierung besteht. Im Kombinationsversuch kann sich diese nicht bemerkbar machen, da das Äthylen das befreite Auxin wenigstens zum Teil blockiert. Es muß indessen betont werden, daß bei unserer geringen Kenntnis der Plasmastruktur bei der Deutung der Kombinationsversuche größte Vorsicht geboten ist. Die hier ausgesprochenen Gedanken haben also nur den Wert von Vermutungen.

Insgesamt wurde erwiesen, daß bei Anwendung physiologischer Konzentrationen *Wuchsstoffe die Wasserpermeabilität des Protoplasmas erhöhen, Hemmstoffe sie herabsetzen*. Der rasche und ausgiebige Wassereintritt bei der Streckung der Zellen wird also unmittelbar durch die Wuchsstoffe ermöglicht, während Hemmstoffe als Antagonisten auftreten und den Wassereintritt erheblich abbremsen. Der rasche Eintritt dieser Wirkungen spricht deutlich dafür, daß sie den *Primäreffekt* der genannten Wirkstoffe darstellen, die somit zunächst als *Regulatoren der Wasserpermeabilität* auftreten. Es ist klar, daß damit die spezifische Wirkung des Auxins bei den folgenden Veränderungen der Zellmembran noch nicht erklärt ist. Doch betrachten wir es als einen Fortschritt, nachgewiesen zu haben, daß diese Wirkstoffe *primär auf das Plasma* und nicht auf die Zellwand wirken. Auch der Nachweis, daß H.A. 10^{-3}—10^{-4} die Protoplasten zerstört, erscheint uns wichtig. Danach ist nämlich anzunehmen, daß alle Effekte, die bei Anwendung so hoher Konzentrationen zu beobachten sind, indirekte Wirkungen des H.A. darstellen. Es könnte sich um die Freimachung von „Nekrohormonen" handeln, wie sie HABERLANDT angenommen hat.

Literatur.

AKKERMAN, A. M., u. W. VELDSTRA: Rec. Trav. chim. Pays-Bas, **66** (1947). — AVERY jr., G. S., I. BERGER and R. O. WHITE: Amer. J. Bot. **32** (1945). — BÄRLUND, H.: Acta bot. fenn. **5**, 1 (1929). — BEIN, N., R. SIGNER u. W. H. SCHOPFER: Experentia **3**, 291 (1947). — BORGSTRÖM, G.: Kungl. Fysiograf. Sällskap. i. Lund. Förhandl. **9** (1939). — BORRIS, H.: Jb. Bot. **85** (1937). — Die Ernährung der Pflanze, 1939. S. 35. — Jb. Bot. **91** (1943). — BRAUNER, L., u. M. HASMAN: Bull. Fac. Med. Istanbul **12** (1949). — COMMONER, B., S. FEGEL and W. H. MULLER: Amer. J. Bot. **30** (1943). — FITTING, H.: Jb. Bot. **56**, 1 (1915); **59**, 1 (1919). —

Friedrich, G.: Planta **25**, 607 (1936). — Geiger-Huber, M., u. E. Sutter: Verh. der Schweiz. Naturforsch. Ges. 1943. — Gellhorn, E.: Protoplasma (Berl.) **12**, 66 (1930). — Guttenberg, H. v.: Fortschr. Bot. **5** (1936). — Naturwiss. **30**, 109 (1942). — Guttenberg, H. v., u. L. Kröpelin: Planta **35**, 257 (1947). — Guttenberg, H. v., u. E. Lehle-Joerges: Planta **35**, 281 (1947). — Guttenberg, H. v., u. E. Steinmetz: Pharmazie **2**, 17 (1947). — Fortschr. Bot. **12**, 323 (1949). — de Haan, I.: Protoplasma (Berl.) **24**, 186 (1935). — Heyn, A.: Rec. trav. bot. néerl. **28**, 113 (1931). — Huber, B., u. H. Höfler: Jb. Bot. **73**, 351 (1930). — Kaczmarek, A.: Protoplasma (Berl.) **6**, 209 (1929). — Kögl, F., A. Haagen-Smit u. H. Erxleben: Hoppe-Seylers Z. **228** (1934). — Koningsberger, V.: Nederl. Acad. de Wetensch. **9**, Nr 13 (1947). — Kröpelin, L.: Diss. Univ. Rostock (Schreibmaschinenmanuskript) 1945. — Kuhn, R., u. D. Jerchel: Naturwiss. **31**, 468 (1943). — Larsen, P.: Planta **30**, 163 (1939). — Mairold, F.: Protoplasma (Berl.) **37**, 445 (1943). — Moewus, F.: Biol. Zbl. **68**, 58 (1949). — Overbeck, F.: Z. Bot. **18**, 401 (1926). — Overbeek, I. van: Amer. J. Bot. **31** (1944). — Pohl, R.: Planta **36**, 230 (1949). — Raadts, E.: Planta **36**, 103 (1949). — Reese, G.: Planta **38**, 324 (1950). — Reinders, D.: Rec. trav. bot. néerl. **39** (1942). — Reinert, J.: Z. Naturforschg **56** (1950). — Ruge, U.: Z. Bot. **31**, 1 (1937). — Planta **35**, 297 (1947). — Söding, H.: Jb. Bot. **74**, 127 (1931). — Strugger, S.: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin 1935. — Sutter, E.: Ber. schweiz. Bot. Ges. **54**, 197 (1944). — Umrath, K., u. F. Weber: Protoplasma (Berl.) **37**, 522 (1943). — Veldstra, H.: Enzymologia (Haag) **11**, 137 (1944). — Veldstra, H., u. E. Havinga: Rec. trav. chim. Pays-Bas. **62**, 842 (1943). — Weissenböck, K.: Phyton **2** (1950). — Went, F.: Rec. trav. bot. néerl. **25**, 1 (1928). — Wildman, S., and J. Bonner: Amer. J. Bot. **35**, 740 (1948). — Wurgler, N.: Experientia **3**, 416 (1947).

Prof. Dr. H. v. Guttenberg, Rostock, Doberanerstr. 143.
Botan. Institut der Universität.

Planta, Bd. 40, S. 70—92 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Frankfurt a. M.

KOHLENDIOXYD-ENTBINDUNG NICHTASSIMILIERENDER GEWEBE IM LICHT.

KRITISCHE STUDIEN ZUM PROBLEM DER LICHTATMUNG*.

Von

GÜNTER ROSENSTOCK.

Mit 14 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Mai 1951.)

I. Einleitung.

Bis zur Gegenwart gibt es keine sichere Methode, die es gestattet, die wahre Kohlensäureassimilation bei Pflanzen genauestens zu bestimmen, da es nicht möglich ist, die bei Belichtung neben der Assimilation statthabende Atmung gleichzeitig zu messen, sondern immer nur vor oder nach der Belichtung in Dunkelversuchen. Bei der Berechnung der wahren Assimilation aus den so im Dunkeln gewonnenen Atmungswerten geht man von der Annahme aus, daß die Atmung der Gewebe im Licht genau so groß ist wie im Dunkeln. Diese Annahme ist aber außerordentlich umstritten, wie ein Studium sowohl der älteren Arbeiten aus den Jahren 1850—1910 (genaue Übersicht bei FÖCKLER 1938) als auch der neueren zeigt.

MASURE (1932) bestrahlt Erbsensämlinge mit ultravioletter Strahlung und findet in der Mehrzahl der Fälle eine geringe Atmungsbeschleunigung im Licht. MONTFORT und FÖCKLER (1938) und FÖCKLER (1938) stellen unter Anwendung der Sauerstoffmethode nach WINKLER fest, daß farblose Gewebe im Licht eine Steigerung der O_2-Aufnahme erfahren, die in ihrem Ausmaß von der Lichtintensität, vom Vorleben des Untersuchungsmateriales und von der Qualität der Strahlung abhängig ist. GAFFRON (1939) greift diese Ergebnisse stark an. Er glaubt, daß der von den beiden genannten Forschern gemessene Sauerstoffschwund nichts mit der normalen Atmung zu tun hat, sondern auf Photooxydationen beruht. Auch MOTHES, BAATZ und SAGROMSKY (1939) und SAGROMSKY (1942) greifen die Ergebnisse MONTFORTS und FÖCKLERS an. SAGROMSKY führt sie vor allem auf methodische Mängel zurück. Diese Mängel beziehen sich nach ihr auf die WINKLERsche Methode der Sauerstoffbestimmung, auf die Inkonstanz der Temperatur während der Versuche und auf die unnatürlichen Versuchsbedingungen für die pflanzlichen Gewebe durch deren Aufenthalt in Wasser. SAGROMSKY selbst findet unter Ausschaltung dieser Mängel bei Bakterien, niederen Pilzen und Wurzeln höherer Pflanzen im „weißen" Licht verschiedener Intensitäten, auch im roten und violetten Licht, keine Atmungssteigerungen. Über die Wirkung ultravioletter Strahlung kann sie keine klare Aussage machen. Diese Strahlung erweist sich in den Versuchen von GIESE und SWANSON (1947) über die Atmung von *Saccharomyces cerevisiae* als wirksam, indem die endogene Atmung nach Bestrahlung angeregt ist.

* Die vorliegende Arbeit stellt einen Auszug aus der Dissertation dar, die in der Senckenberg-Bibliothek, Frankfurt a. M., zu entleihen ist.

Die unterschiedlichen Ergebnisse dieser und der älteren Arbeiten ließen es notwendig erscheinen, die Probleme der Lichtatmung erneut aufzugreifen. Die Versuche waren mit einer Methode durchzuführen, die für die vorgesehenen Gewebe geeigneter war als die WINKLERsche. Dabei sollte zunächst geprüft werden, ob das Licht einen unmittelbaren Einfluß auf die CO_2-Entbindung farbloser, d. h. nichtassimilierender Gewebe ausübt und wieweit ein möglicher Einfluß von der Temperatur, vom Vorleben der Gewebe und von der Qualität der Strahlung abhängig ist.

Im Rahmen dieser Aufgaben sollte dann auf die bedeutsame Frage einer „Lichtatmungsreaktion" eingegangen werden, und schließlich galt es, Deutungsmöglichkeiten für das Zustandekommen der unterschiedlichen Ergebnisse jener älteren Arbeiten zu erörtern.

II. Methode.

Zur Durchführung der gestellten Aufgaben wurde die CO_2-Luftstrommethode ausgewählt, wie sie von BOYSEN-JENSEN (1928) beschrieben und von STOCKER (1942) durch Verwendung von Absorptionsröhren mit Fritten geändert wurde. Die Messung des absorbierten Kohlendioxyds erfolgte durch Titration.

A. Die Versuchsapparatur (Abb. 1).

Die Apparatur, die eine Kombination zweier gleichartiger Aspirations- und Absorptionssysteme darstellt, ermöglicht es, synchrone Vergleichsversuche durchzuführen. Sie setzt sich aus folgenden Teilen zusammen:

1. **Aspirator** (Abb. 1, A).
2. **Absorptionsvorrichtung** (Abb. 1, B).
3. **Absorptionsflüssigkeit:** n/50 $Ba(OH)_2$.
4. **Titrationsflüssigkeit:** n/40 HCl.

(s. STOCKER 1942)

5. **Rezipient** (Abb. 1, C, R): Zinkblechkasten (14 × 10 × 2 cm) mit runder Quarzglasscheibe und aufschraubbarem Deckel zum luftdichten Abschluß mittels Gummidichtung. Eingebautes Thermometer zur ständigen Temperaturkontrolle während der Versuche. Vermeidung des „toten Raumes" durch Einschieben von Glasplatten.

6. **Einrichtung zur Konstanthaltung der Temperatur** (Abb. 1, C): Versuchskammer steht in einem Thermostaten, dessen Temperatur mittels eines Kontaktthermometers auf 22° C konstant gehalten wird. Die angesaugte Luft gelangt zur Angleichung an die Thermostatentemperatur vor Eintritt in die Versuchskammer durch eine Vorwärmeschlange (*Sch*). Zur Ausschaltung der Wärmestrahlung bei Belichtung wird eine Kühlküvette (*K*) (zusätzlich Quarzfenster) mit fließendem Wasser und ein Schottfilter BG 17 (*F*) zwischen Lampe und Atmungskammer eingefügt. Dadurch Temperaturkonstanz auch während der Belichtung auf $\pm$ 0,15° C.

7. **Einrichtung zur Konstanthaltung der Luftfeuchtigkeit** (Abb. 1, D). Die Luft gelangt vor Eintritt in die Atmungskammer durch einen Raum, in dem durch zahlreiche stets feuchte Filtrierpapierstreifen eine dauernd wassergesättigte Atmosphäre geschaffen ist, und anschließend durch eine mit einigen Wassertropfen versehene

U-Röhre (*U*). Kontrollversuche mit geeichtem Haarhygrometer zeigten an, daß in der Atmungskammer stets 100%ige Luftfeuchtigkeit herrschte.

8. Bestrahlungseinrichtung (Abb. 1, E): Die Bestrahlung erfolgt durch einen Stutzen in der Thermostatentür (*St*), hinter dem sich unmittelbar die Versuchskammer befindet. Folgende künstliche Lichtquellen werden verwendet: Osram-Glühlampen 1000, 500, 250, 150 Watt; Osram-Ultra-Vitalux-Lampe g 24, 300 Watt, (UVL). Zur Ausschaltung von Spannungsschwankungen wird ein Spannungsregler mit einer Grenze von $\pm 1{,}5$ Volt eingeschaltet.

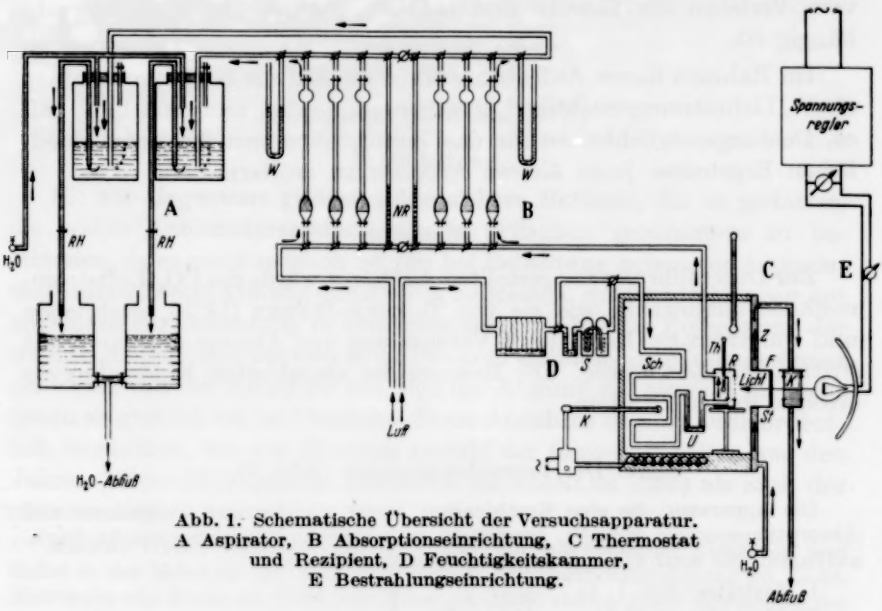


Abb. 1. Schematische Übersicht der Versuchsapparatur. A Aspirator, B Absorptionseinrichtung, C Thermostat und Rezipient, D Feuchtigkeitskammer, E Bestrahlungseinrichtung.

Um mit qualitativ verschiedenem Licht zu arbeiten, werden Farbgläser der Firma Schott & Gen., Jena, verwendet, die mehrfach kombiniert sind. Die Kombinationen für die Versuche mit verhältnismäßig engen „monochromatischen" Bereichen gehen aus Tabelle 1, die für die Differenzfilterversuche aus Tabelle 2 hervor.

Die Herstellung intensitätsgleicher, aber qualitativ verschiedener Strahlung erfolgt durch Veränderung des Lampenabstandes unter Verwendung einer Thermosäule in Verbindung mit einem empfindlichen Galvanometer. Es wird jeweils an

Tabelle 1.

Filter Nr.	Kombination der Farbgläser	Farbe des durchfallenden Lichtes
1	RG 2 + BG 17	rot-orange
2	VG 9 + BG 17	grün
3	BG 12 + GG 5 + BG 17	blau
4	BG 1 + BG 23 + Fensterglas (2 mm) + BG 17	violett
5	UG 1 + BG 17	langwelliges ultraviolett

die lichtschwächste Kombination angeglichen, und zwar bei den Versuchen mit relativ schmalen Wellenbereichen an die Kombination Nr. 3 = blau (Tabelle 1), bei den Differenzfilterversuchen an die 1. (Tabelle 2, RG 8).

Die Lichtintensität für die Versuche mit „monochromatischem" Licht beläuft sich auf 0,036 Watt/cm² (0,0086 cal/cm²/sec), für die Differenzfilterversuche auf 0,14 Watt/cm² (0,033 cal/cm²/sec).

Um aus dem künstlichen Licht ein „Weißlicht" herzustellen, das qualitativ etwa dem Tageslicht entspricht, wird das Schottfilter BG 14 verwendet.

Tabelle 2.

Lfd. Nr.	Filterbezeichnung nach Katalog	Durchlässigkeit bis zur Wellenlänge
1	RG 8	$\lambda > 700$ mμ
2	RG 2	$\lambda > 630$ mμ
3	RG 1	$\lambda > 600$ mμ
4	OG 2	$\lambda > 550$ mμ
5	GG 11	$\lambda > 500$ mμ
6	GG 5	$\lambda > 440$ mμ
7	Fensterglas (2 mm)	$\lambda > 375$ mμ
8	BG 17	$\lambda > 340$ mμ
9	ges. Spektrum d. UVL = UVA + B	$\lambda > 280$ mμ

B. Das Versuchsmaterial und seine Vorbehandlung.

Folgende farblose Gewebe werden untersucht:

Solanum tuberosum	Scheiben aus der Knolle
Asparagus officinalis	Scheiben aus jungen Sprossen
Cucurbita pepo	Samen (Samenhüllen entfernt)
Allium cepa	Blätter der Zwiebel
Acer negundo	Weiße Blätter.

Bei den Knollen von *Solanum* und bei jungen Sprossen von *Asparagus* werden etwa 2 mm starke Scheiben verwendet. Diese sind gut zu durchleuchten und zeigen auf Grund ihrer guten Durchlüftung erfahrungsgemäß einen normalen Gaswechsel (Atmungsquotient = 1) (Denny 1947, Stiles und Dent 1947). Die Samen von *Cucurbita* werden von allen Samenhüllen befreit und als ganze nebeneinander in der Versuchskammer angebracht, so daß eine größere Bestrahlungsfläche entsteht. Bei *Allium* werden aus besonders großen Blättern der Zwiebel Flächen so ausgeschnitten, daß diese eine möglichst geringe Wölbung zeigen. Weiße Blätter von *Acer negundo* gelangen als ganze in die Versuchskammer, wobei der Blattstiel in einem kleinen wassergefüllten Väschen steht.

Sämtliches Material wird — soweit nicht anders angegeben — in gleicher Weise am Vorabend des Versuches in mäßigem Licht vorbereitet. Kartoffel- und Spargelscheiben sowie Blätter der Küchenzwiebel werden dabei nach dem Schneiden kurz mit fließendem Wasser abgespült und dann während der Nacht unter feuchtem Filtrierpapier in Dunkelheit aufbewahrt, ebenso wie die Samen von *Cucurbita* und die weißen Blätter von *Acer negundo*.

C. Zum Versuchsgang.

Das mittels dünner Fäden auf einem Zelluloidrahmen angebrachte Versuchsmaterial wird so in die Kammer eingeführt, daß das Reservoir des Thermometers unmittelbar der unbestrahlten Seite des Materiales anliegt und letzteres gut von

der durchströmenden Luft umspült wird. Jeder Atmungsmessung voraus geht eine Vorsaugung zur Herstellung eines Gleichgewichtes in der gesamten Apparatur. Synchron mit jedem Atmungsversuch wird eine Bestimmung des CO_2-Gehaltes der atmosphärischen Luft vorgenommen. Auch in den Meßpausen befindet sich das Material in einem gleichmäßigen Luftstrom (Strömungsgeschwindigkeit meist 3 Liter/10 min), (Meßmethodik: s. STOCKER 1942).

In der vorliegenden Arbeit werden in allen nicht besonders gekennzeichneten Fällen die Kurven nach dem Simultanverfahren ermittelt, wobei man so vorgeht, daß ein variierter Faktor auf jeweils gleichartig vorbehandeltes Material einwirkt (MONTFORT 1932). Dabei wird die Atmungsintensität vor der Belichtung (Voratmung), während der Belichtung (Lichtatmung) und nach der Belichtung (Nachatmung) gemessen.

Um den Individualitätsfaktor des zu untersuchenden Gewebes zu bestimmen, wird die Voratmung während mehrerer Stunden gemessen. Die Atmungsschwankungen aller untersuchten Gewebe betrugen maximal $\pm$ 3% des anfänglichen Dunkelwertes. Dieser Wert liegt an der Fehlergrenze der Methode und kann daher vernachlässigt werden.

D. Die Fehlergrenze der Methode.

Die Bestimmung des Fehlerbereiches der Methodik wurde so durchgeführt, daß mit 2 Röhren gleichzeitig der CO_2-Gehalt der Luft bestimmt wurde. Aus den Abweichungen, durch die sich die mit 2 verschiedenen Röhren gefundenen Werte unterschieden, ließ sich der Fehler errechnen.

Auf Grund der aus der Fehlerrechnung bekannten Formeln ergab sich aus mehr als 200 parallelen Luftanalysen für das Analysenpaar ein 3facher mittlerer Fehler von $\pm$ 0,021 mg CO_2/Liter (= 3,5%) oder $\pm$ 0,015 mg CO_2/Liter (= 2%) für die einzelne Luftanalyse. Da sich im Zuge der Gewebsatmung der Gesamt-CO_2-Gehalt der durchgesaugten Luft noch erhöht, so liegt der Fehler für die Atmungsmessungen noch unterhalb des angegebenen Wertes.

III. Versuchsergebnisse.

1. Die Zeitphasen der CO_2-Entbindung im Licht und die Frage ihrer Allgemeingültigkeit.

In Vorversuchen mit Kartoffelscheiben hatte sich gezeigt, daß bei 1-stündiger Einwirkung einer bestimmten Strahlung eine Stimulation der CO_2-Abgabe erfolgt, die in ihrem Ausmaß Beziehungen zur Intensität der Strahlung, zum Vorleben der Gewebe und zur Qualität der Strahlung aufwies. Diese Beziehungen genauer zu definieren, war die Aufgabe der nachfolgend beschriebenen Versuche.

Vor der Bearbeitung dieser Fragen mußte aber zunächst geprüft werden, wie sich die CO_2-Entbindung bei länger andauernder Belichtung gestalten würde und ob die CO_2-Abgabe ganz verschiedener farbloser Gewebe gewissen Gesetzmäßigkeiten unterliege.

Versuchsanordnung. Kartoffelscheiben, Kürbissamen, Spargelscheiben, Blätter der Zwiebel von *Allium cepa* und 13 Tage vorverdunkelte weiße Blätter von *Acer negundo* (vgl. Abschn. III, 3, b) werden nach bekannter Vorbehandlung auf ihre Dunkelatmung untersucht und anschließend mehrere Stunden der Strahlung der Ultra-Vitalux-Lampe ausgesetzt. Dabei wird laufend die CO_2-Abgabe gemessen.

ebenso nach der Belichtung wieder im Dunkeln. Die graphischen Darstellungen 2—5 zeigen das Ergebnis dieser Versuchsreihe, wobei jeweils die Durchschnittswerte aus

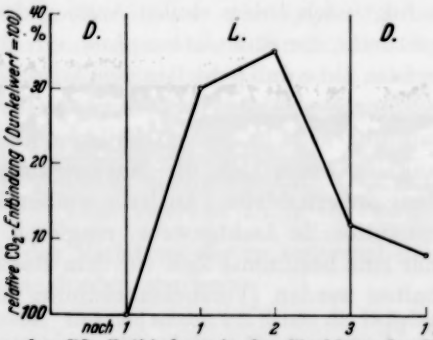


Abb. 2. Zeitphasen der CO_2-Entbindung in der Strahlung der Ultra-Vitalux-Lampe. Versuch mit entschälten Samen von *Cucurbita pepo.*

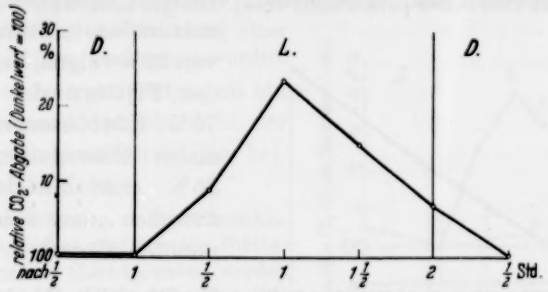


Abb. 3. Zeitphasen der CO_2-Entbindung in der Strahlung der Ultra-Vitalux-Lampe. Versuch mit Scheiben aus jungen Sprossen von *Asparagus officinalis.*

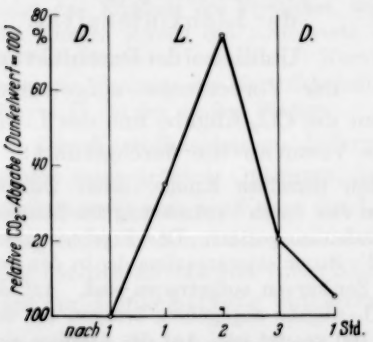


Abb. 4. Zeitphasen der CO_2-Entbindung in der Strahlung der Ultra-Vitalux-Lampe. Versuch mit Blättern aus der Zwiebel von *Allium cepa.*

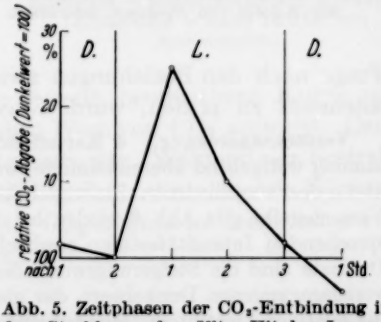


Abb. 5. Zeitphasen der CO_2-Entbindung in der Strahlung der Ultra-Vitalux-Lampe. Versuch mit 13 Tage vorverdunkelten weißen Blättern von *Acer negundo.*

5 verschiedenen Meßreihen wiedergegeben sind. Die einzelnen Meßreihen unterschieden sich nur unwesentlich voneinander.

Vergleicht man die Abb. 2—5 miteinander, so ergibt sich ein grundsätzlich übereinstimmendes Bild des Kurvenverlaufes, wie es bereits in

einer vorläufigen Mitteilung von MONTFORT und ROSENSTOCK (1950) am Beispiel der Kartoffelscheiben dargelegt wurde.

In allen Fällen folgt nach einem steilen Anstieg der Kurven in der 1.—2. Bestrahlungsstunde, der *Stimulationsphase*, ein ebenso steiler Abfall, die *Ausgleichsphase*, ohne daß jedoch in den dargestellten Versuchen während der Bestrahlung die Abszisse erreicht wird. Der Wert der nachfolgenden Dunkelatmung liegt in einigen Fällen noch über dem Ausgangswert im Dunkeln, worin sich die Nachwirkung der vorausgegangenen Bestrahlung äußern dürfte. Auch die weißen Blätter von *Acer negundo*, also konstitutionelle Lichtgewebe, reagieren in der gleichen Weise, sofern sie nur eine bestimmte Zeit vor dem Bestrahlungsversuch in Dunkelheit gehalten werden (Versuchsanordnung und Einzelheiten vgl. Abschn. III, 3, b).

Das Ausmaß der Stimulation der CO_2-Abgabe im Licht ist bei den einzelnen Geweben sehr verschieden. Während Spargelscheiben einen maximalen Stimulationswert von 22% zeigen, liegt dieser bei den Blättern der Zwiebel bei 70%. Kürbissamen nehmen mit einem Stimulationswert von 35% eine Mittelstellung ein zwischen den beiden erstgenannten Geweben.

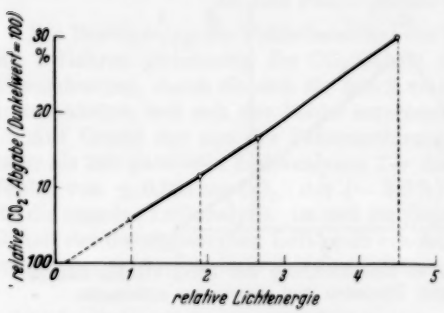


Abb. 6. Abhängigkeit der CO_2-Entbindung von der Lichtintensität. Versuch mit Scheiben aus der Knolle von *Solanum tuberosum*.

2. Die CO_2-Entbindung in ihrer Abhängigkeit von der Lichtintensität.

Um die bei der Durchführung der Vorversuche aufgetretene Frage nach den Beziehungen zwischen der CO_2-Abgabe und der Lichtintensität zu prüfen, wurde folgende Versuchsreihe durchgeführt:

Versuchsanordnung. 4 Kartoffelscheiben derselben Knolle, deren Dunkelatmung weitgehend übereinstimmte, werden vier durch Veränderung des Lampenabstandes verschiedenen Lichtintensitätsstufen ausgesetzt. Das Ergebnis dieser Versuchsreihe gibt Abb. 6 wieder, bei der die Stimulationsmaxima der in den entsprechenden Intensitätsstufen ermittelten Zeitkurven aufgetragen sind. Auf der Ordinate sind die Steigerungswerte der CO_2-Abgabe angegeben, bezogen auf den vorausgegangenen Dunkelwert, der gleich 100 gesetzt ist. Auf der Abszisse sind die relativen Lichtintensitäten aufgetragen, bezogen auf die schwächste, die gleich 1 gesetzt ist. Die relative Intensität 4,5 ist somit die stärkste, die mit einer Glühlampe 500 W + BG 14 + BG 17 in 28 cm Abstand erreicht wurde (etwa 1600 Lux).

Die graphische Darstellung zeigt, daß mit zunehmender Intensivierung der Bestrahlung eine Beschleunigung der CO_2-Abgabe erzielt wird. Während bei der relativen Intensität 1 die Stimulation 6%, bezogen auf den Dunkelwert, ausmacht, beträgt sie 12% bei der relativen Inten-

sität 1,9, 16% bei der Intensität 2,65 und schließlich 30% bei der Intensität 4,5. Insgesamt ergibt sich also im Bereich der verwendeten Intensitäten eine *lineare Abhängigkeit* zwischen Stimulationshöhe der CO_2-Entbindung und der Intensität der Strahlung. Ungeklärt bleibt einstweilen der Verlauf der Kurve bei solchen Intensitäten, die geringer oder aber stärker sind als die verwendeten.

3. Die CO_2-Entbindung im Licht in Abhängigkeit vom Vorleben der Gewebe.

Hinsichtlich des Vorlebens der zu untersuchenden Gewebe müssen 2 Gruppen unterschieden werden:

a) Dunkelgewebe. Das sind solche, bei denen die Belichtung während des Versuches die erste stärkere während ihrer Existenz überhaupt darstellt.

b) Lichtgewebe. Das sind solche, die bereits in ihrem Vorleben entweder dem regelmäßigen Wechsel von Tag und Nacht unterworfen waren oder die in einer mehr oder weniger intensiven Strahlung einer künstlichen Lichtquelle angezogen wurden.

Zunächst war zu prüfen, ob ein grundsätzlicher Unterschied in der CO_2-Entbindungsreaktion dieser beiden Gewebe besteht.

Versuchsanordnung. 3 Kartoffelscheiben (Dunkelgewebe) und 3 weiße Blätter von *Acer negundo* (Lichtgewebe) werden mit der Ultra-Vitalux-Lampe bestrahlt und auf ihre CO_2-Abgabe geprüft. Abb. 7 zeigt das Ergebnis des Versuches, wobei die Kurven jeweils die Mittelwerte aus 3 Versuchsreihen darstellen. Kurve I zeigt die Reaktion der Kartoffelscheiben, Kurve II die der weißen Blätter.

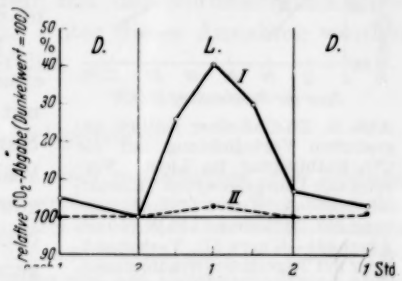


Abb. 7. CO_2-Entbindung eines Dunkel- und eines Lichtgewebes in der Strahlung der Ultra-Vitalux-Lampe. Kurve I: Dunkelgewebe = Kartoffelscheiben. Kurve II: Lichtgewebe = weiße Blätter von *Acer negundo*.

Die Kartoffelscheiben liefern die bereits beschriebene Kurve mit einem ausgeprägten Optimum, das einen Wert von 40% aufweist. Ganz anders stellt sich die Kurve der Lichtgewebe dar. Während der Bestrahlung ergibt sich nur eine außerordentlich geringe stimulierende Wirkung des Lichtes, so daß sich diese Kurve der CO_2-Abgabe im Licht kaum von der der Dunkelatmung unterscheidet.

a) Versuche mit Dunkelgeweben.

Wenn aus oben beschriebenem Versuch hervorging, daß das Dunkelgewebe hinsichtlich seiner CO_2-Abgabe im Licht wesentlich stärker reagiert als das Lichtgewebe, so erhob sich die Frage, ob es möglich sei, dieses Dunkelgewebe durch eine verschieden lange Vorbelichtung allmählich umzustimmen.

Versuchsanordnung. Aus einer frisch ausgegrabenen Kartoffelknolle werden mehrere Scheiben ausgeschnitten und nach bekannter Vorbehandlung mit dem Licht einer Glühlampe 200 Watt aus 60 cm Abstand verschieden lange bestrahlt. Andere Scheiben derselben Knolle werden so ausgelegt, daß sie den ganzen Tag in den Genuß des diffusen Tageslichtes kommen, ohne von Sonnenstrahlen getroffen zu werden. Am Vorabend des Versuchstages werden die Objekte verdunkelt, so daß am Versuchstag der unmittelbare Lichtreiz der vergangenen Bestrahlung abgeklungen ist, ohne daß eine Umstimmung des Gewebes auf die Dunkelheit stattgefunden hat. Im Versuch wird dann mit einer Glühlampe 500 Watt + BG 14 (28 cm Abstand) bestrahlt. Zwischenprüfungen mit stets verdunkelten Kontrollscheiben ergeben, daß die Stimulation der CO_2-Abgabe im Licht immer den gleichen Wert zeigt, gleichgültig, ob die Scheiben 1, 2 oder mehr Tage im Dunkeln gehalten werden. Auch die Dunkelatmung sämtlicher behandelter Scheiben stimmt weitgehend überein. Gemessen wird die Voratmung im Dunkeln, die CO_2-Abgabe in der 1. und 2. Lichtstunde — der Maximalwert lag immer nach der 1. Std — und die nachfolgende Dunkelatmung. Abb. 8 zeigt das Ergebnis dieser Versuchsreihe.

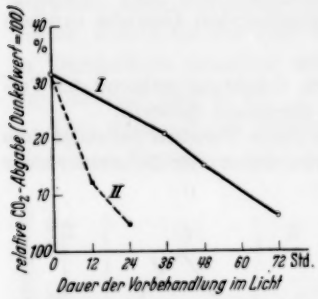


Abb. 8. Einfluß einer zeitlich abgestuften Vorbelichtung auf die CO_2-Entbindung im Licht. Versuch mit Dunkelgeweben (Kartoffelscheiben). Kurve I: Vorbelichtung mit Glühlampe 200 W (60 cm Abstand). Kurve II: Vorbehandlung mit Tageslicht (Grauhimmel).

Kurve I der Abb. 8 zeigt den Einfluß einer zeitlich abgestuften Vorbehandlung mit Glühlampenlicht auf die nachfolgende Stimulation der CO_2-Abgabe im Licht. Während das nicht vorbelichtete Dunkelgewebe im Bestrahlungsversuch eine Stimulation der CO_2-Abgabe von 31% gegenüber dem Dunkelwert aufweist, zeigt eine Scheibe, die 36 Std ununterbrochen vorbelichtet wurde, nur eine Stimulation von 21%. Mit zunehmender Vorbelichtungszeit nimmt die Stimulation weiterhin linear ab; bei einer Vorbelichtungszeit von 48 Std beträgt sie nur noch 14% und bei 72-stündiger Vorbelichtung schließlich nur noch 5%. In der Tat unterscheidet sich die Zeitkurve der CO_2-Abgabe dieser 72 Std vorbehandelten Kartoffelscheibe nicht von der eines konstitutionellen Lichtgewebes. Da die in diesem Versuch bei der Vorbehandlung verwendete Lichtquelle schwächer als die des Bestrahlungsversuches war, so erschien es nunmehr wichtig zu prüfen, wie sich die Verhältnisse gestalten, wenn in der Vorbehandlung ein intensiveres Licht als das des Bestrahlungsversuches einwirkte. Kurve II der Abb. 8 gibt das Ergebnis dieser Versuchsreihe wieder, bei der mit Tageslicht vorbehandelt wurde.

Schon bei einer Vorbehandlung von nur 12 Std mit Tageslicht beträgt die Stimulation der anschließend bestimmten CO_2-Abgabe im Licht nur 12%, bezogen auf den Dunkelwert. Bei 24-stündiger Vorbehandlung mit Tageslicht wird ein Stimulationswert von nur 3% erreicht, ein Wert also, der bei Kurve I erst nach mehr als 70-stündiger Vorbehandlung erreicht wurde.

Als Ergebnis dieser Versuchsreihe ist also festzustellen, daß ein Dunkelgewebe bezüglich seiner CO_2-Abgabe im Licht nach einer bestimmten Zeit der Vorbehandlung mit Licht ebenso reagiert wie ein Lichtgewebe. Die Umstimmungszeit ist dabei von der Stärke des Lichtes der Vorbehandlung abhängig. Ist dieses schwächer als das des anschließenden Bestrahlungsversuches, so erfolgt die Umstimmung relativ langsam, ist es aber stärker, so erfolgt die Umstimmung wesentlich rascher. Dabei ist bei der Vorbehandlung mit Tageslicht noch zu berücksichtigen, daß nach einer 12-stündigen Vorbehandlung mit diesem eine ebensolange Dunkelperiode folgte, bevor der Bestrahlungsversuch durchgeführt wurde. Wenn dennoch eine sehr rasche Umstimmung des Dunkelgewebes eintrat, so ergibt sich daraus, daß der auf das Gewebe ausgeübte Einfluß des Lichtes wesentlich wirksamer sein muß als der von der Dunkelheit ausgehende Einfluß. Demgemäß konnte man bei den umgekehrten Versuchen der Umstimmung eines Lichtgewebes durch Vorverdunkelung schon von vornherein mit der Notwendigkeit einer längeren Vorbehandlungszeit rechnen. Unter dieser Annahme wurden die nachstehenden Versuche durchgeführt.

b) Versuche mit Lichtgeweben.

Versuchsanordnung. 10 weiße Blattpaare eines panaschierten *Acer negundo*, die aus dem gleichen Lichtfeld stammen, werden zu gleicher Zeit mit lichtundurchlässigen Silberpapiertüten am Wuchsort im Innern des lichten Baumes verdunkelt. Die Tüten sind so beschaffen, daß eine Beschädigung der Blätter vermieden wird. Die verdunkelten Blätter werden erst am Untersuchungstag abgenommen und baldigst untersucht. Alle verdunkelten Blätter machten einen frischen Eindruck, waren in keinem Falle welk oder zeigten gar Schädigungen. Vor dem Versuch wird jedes Blatt kurz in Wasser getaucht, mit Filtrierpapier abgetrocknet, der Stiel unter Wasser schräg abgeschnitten und in ein kleines wassergefülltes Väschen gesteckt, das Blatt dann in die Versuchskammer eingebracht und nach der Vorsaugung untersucht. Vergleichsblätter hatten gezeigt, daß bei solcher Behandlung die Spalten offen sind (Infiltrationsmethode). Zunächst werden die verschieden lange vorverdunkelten Blätter auf ihre Dunkelatmung untersucht, wobei sich zeigt, daß auch die am längsten vorverdunkelten Blätter in ihrer Atmungsintensität kaum gemindert sind. Die anschließende Belichtung erfolgt mit der Ultra-Vitalux-Lampe (42 cm Abstand), wobei zunächst die zeitliche Auswirkung der Bestrahlung auf die CO_2-Entbindung der verschieden lange vorverdunkelten Blätter geprüft wird. In allen Fällen ergeben sich Zeitkurven, wie sie bereits in Abschnitt III, 1 beschrieben sind. Faßt man die Maxima dieser Zeitkurven in ihrer Abhängigkeit von der Dauer der vorausgegangenen Verdunkelung in einer graphischen Darstellung zusammen, so ergibt sich das Bild der Abb. 9.

Die Darstellung zeigt, daß die Stimulation der CO_2-Abgabe im Licht bei 5-stündiger Vorverdunkelung mit einem Wert von 2% innerhalb der Fehlergrenze liegt. Bei einer Vorverdunkelung von 4 Tagen erreicht die Stimulation einen Wert, der um 18% über dem Dunkelwert liegt. Nach 9-tägiger Vorbehandlung beträgt die Stimulation 25%. Dieser Wert

wird auch bei Ausdehnung der Vorverdunkelungszeit auf 13 Tage wiederum erreicht, und bei einer Vorverdunkelungszeit von 20 Tagen wird schließlich ein Stimulationswert von 30% erzielt. Die Kurve in ihrem Gesamtverlauf macht es wahrscheinlich, daß bei noch weiterer Ausdehnung der Vorverdunkelungszeit die Kurve schließlich parallel zur Abszisse verläuft, d. h. die für eine bestimmte Lichtquelle optimale Reaktionsmöglichkeit des Gewebes bezüglich seiner CO_2-Entbindung im Licht wäre erreicht.

Faßt man die Ergebnisse der Umstimmungsversuche zusammen, so läßt sich feststellen, *daß zwischen der Reaktionsfähigkeit eines Dunkel- und eines Lichtgewebes kein grundsätzlicher Unterschied besteht, sondern nur ein quantitativer.* Bei entsprechender Vorbehandlung ist ein Lichtgewebe in der Lage, sich bezüglich seiner CO_2-Entbindung im Licht wie ein Dunkelgewebe zu verhalten. Umgekehrt kann ein Dunkelgewebe bei entsprechender Vorbehandlung wie ein Lichtgewebe reagieren. Auch die Zeitkurven der CO_2-Abgabe im Licht unterscheiden sich nicht: immer ergibt sich — sofern eine Reaktion erfolgt — das Bild der typischen Optimumkurve. Die Umstimmungszeit ist bei beiden Gewebearten abhängig von der Intensität des während der Vorbehandlungszeit einwirkenden Reizes, wobei Tageslicht stärker wirkt als Dunkelheit.

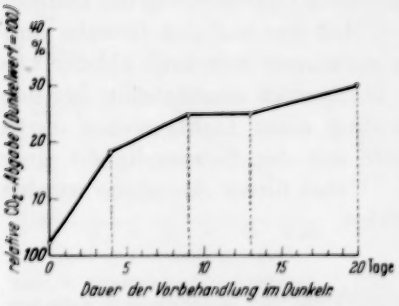


Abb. 9. Einfluß einer zeitlich abgestuften Vorverdunkelung auf die CO_2-Entbindung im Licht. Versuch mit Lichtgeweben (weiße Blätter von *Acer negundo*).

4. Die Zeitkurve der CO_2-Entbindung im Licht in Abhängigkeit von der Temperatur.

Ausgehend von der Annahme, daß es sich bei den in den vorher beschriebenen Versuchen erfolgten Stimulationen der CO_2-Entbindung im Licht um eine Auswirkung der Bestrahlung auf die Atmung des Gewebes handeln könne, sollte — da die Atmung ein temperaturabhängiger Prozeß ist — in den folgenden Versuchen die Frage geprüft werden, wie sich die Zeitphasen der CO_2-Stimulation im Licht bei verschiedenen Temperaturen darstellen.

Versuchsanordnung. 3 Kartoffelscheiben derselben Knolle werden bei 3 verschiedenen Temperaturen untersucht, und zwar die eine bei 10° C, die zweite bei 21° C und die dritte bei 33° C. Die Bestrahlung erfolgt mit dem gesamten Spektrum der Ultra-Vitalux-Lampe unterhalb λ 800 mμ aus 35 cm Abstand. Die beiden Temperaturstufen von 21° und 33° C sind mit Hilfe der in den Thermostaten eingebauten Heizröhren in Verbindung mit einem Kontaktthermometer leicht herzustellen. Zur Erreichung einer Temperatur von 10° C wird so vorgegangen, daß

die Atmungskammer in einen größeren Behälter gestellt wird, der mit Eisstücken angefüllt ist, durch die sich nach kurzer Zeit die Temperatur in der Atmungskammer auf 10° C konstant einstellt. Das schmelzende Eis wird in gleichem Maße durch neue Eisstücke ersetzt. Bei jedem Versuch wird erst längere Zeit vorgesaugt, bis sich das Material auf die entsprechende Temperatur eingestellt hat, was sich aus der Konstanz der Atmungswerte im Dunkeln ergibt. Erst dann wird 2 Std bestrahlt und dabei laufend die CO_2-Abgabe bestimmt. Abschließend erfolgt die Messung der Nachatmung. Das Ergebnis dieser Versuchsreihe gibt Abb. 10 wieder, in der die Mittelwerte aus je 3 Meßreihen eingetragen sind.

Beim Vergleich der 3 Kurven werden deutliche Unterschiede sichtbar. Kurve I dieser Abbildung stellt den Verlauf der CO_2-Entbindung im Licht bei einer Temperatur von 10° C dar. In der 1. und 2. halben Bestrahlungsstunde geht die Stimulation nur sehr langsam vonstatten und erreicht einen Wert von 10%. In der 3. halben Bestrahlungsstunde steigt die Kurve steil an und erreicht hier ihren maximalen Wert von 43%. In der 4. und damit letzten halben Stunde der Belichtung erfolgt ein steiler Abfall der Kurve bis zum Ausgangswert, der auch bei den nachfolgenden Messungen im Dunkeln erhalten bleibt.

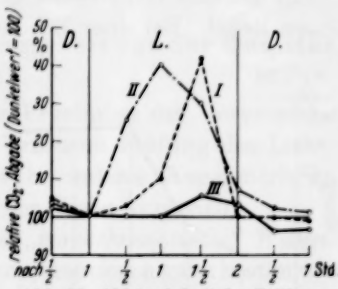


Abb. 10. Abhängigkeit der Zeitkurve der CO_2-Entbindung im Licht von der Temperatur. Versuch mit Scheiben aus der Knolle von *Solanum tuberosum* in der Strahlung der Ultra-Vitalux-Lampe. Kurve I: bei 10° C, Kurve II: bei 21° C, Kurve III: bei 33° C.

Etwas anders ist der Verlauf der Kurve II, die die Stimulation der CO_2-Entbindung im Licht bei einer Temperatur von 21° C darstellt. Hier erfolgt bereits in der 1. halben Bestrahlungsstunde ein steiler Anstieg der Kurve bis zu einem Stimulationswert von 25%. Auch in der 2. halben Stunde steigt die Kurve noch an und erreicht hier — also zu einem Zeitpunkt, an dem bei der niederen Temperatur von 10° C erst eine geringfügige Stimulation erzielt wird — ihren maximalen Stimulationswert. In der 3. und 4. halben Bestrahlungsstunde erfolgt dann der zunächst geringere, dann stärkere Abfall der Kurve, ohne daß diese jedoch die Abszisse während der Belichtung vollends erreicht.

Ganz anders stellt sich der Verlauf der Kurve III dar, die die Stimulation der CO_2-Entbindung im Licht bei einer Temperatur von 33° C wiedergibt. *Während der gesamten Belichtungsperiode ist keine bzw. eine nur unwesentliche Steigerung der CO_2-Abgabe zu erkennen*, wobei der Maximalwert an der Fehlergrenze der Methodik liegt.

Um eine Deutung für diese durch die 3. Kurve aufgetretene Erscheinung zu finden, sollte nunmehr die CO_2-Entbindung im Dunkeln, also die Dunkelatmung des Gewebes, in Abhängigkeit von der Temperatur studiert werden.

Versuchsanordnung. 5 Kartoffelscheiben aus derselben Knolle werden 5 verschiedenen Temperaturstufen ausgesetzt. Es wird also das Simultanverfahren angewendet. — Eine sukzedane Versuchsfolge, bei der ein und dieselbe Scheibe nacheinander den verschiedenen Temperaturstufen ausgesetzt wurde, zeitigte das gleiche Ergebnis. — Die einzelnen Temperaturstufen werden in der vorher beschriebenen Weise hergestellt. Das Gewebe verharrt jeweils erst längere Zeit in der entsprechenden Temperatur im ständigen Luftstrom. Dann erfolgt die Messung der CO_2-Abgabe über 2—3 Std, während deren die Atmungswerte nahezu konstant bleiben. Die in Abb. 11 eingetragenen Werte stellen die Mittelwerte aus den in den Meßstunden insgesamt gefundenen Werten dar. Eine Vorprobe sämtlicher Scheiben bei 20° C ergibt weitgehend übereinstimmende Dunkelwerte aller Scheiben.

Im Bereich von 10—30° C steigt die Atmung nach der VAN'T HOFFschen Regel. Bei einer Erhöhung der Temperatur von 30° auf 40° und schließlich auf 50° C zeigt die Atmung keinen weiteren Anstieg mehr, sondern die Werte der Dunkelatmung bleiben auf der Höhe des Wertes, der auch bei einer Temperatur von 30° C erzielt wurde.

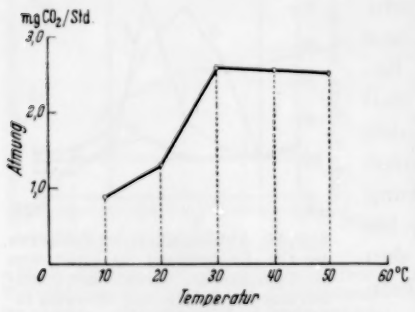


Abb. 11. Temperaturabhängigkeit der Dunkelatmung von Kartoffelscheiben.

Diese Kurve ist insofern interessant, als allgemein für die Temperaturkurve der Atmung eine ausgesprochen spitze Optimumkurve erwartet wird, wie sie LUNDEGÅRDH (1925) z. B. für Kartoffelblätter gefunden hat, wobei das Optimum der Atmung bei etwa 50° C liegt. Andererseits ist bekannt, daß die Atmung bei einer Temperaturerhöhung nur vorübergehend gesteigert zu sein braucht, um früher oder später auf einen niederen Wert zu sinken (aus BÜNNING 1939 nach GUHA THAKURTA und DUTT).

Demnach ergeben sich für die Deutung der Temperaturkurve der Dunkelatmung in Abb. 11 zwei Möglichkeiten:

1. Bei einer Erhöhung der Temperatur von 30° auf 40° und schließlich auf 50° C tritt tatsächlich keine weitere Atmungssteigerung ein, da sich das Atmungssystem in einem optimalen Wirkungszustand befindet.

2. Eine mit der Temperaturerhöhung verbundene Atmungssteigerung erfolgte vorübergehend so kurzfristig, daß sie in der beschriebenen Versuchsdurchführung nicht erfaßt, vielmehr erst ein zweites, niederes Gleichgewicht festgestellt wurde, das seinerseits bereits die Folge von schädigenden Prozessen sein könnte.

Wie dem auch sei, beiden Deutungen gemeinsam ist die Tatsache, daß im vorliegenden Versuch trotz Temperaturerhöhung oberhalb 30° C keine Atmungssteigerung im Dunkeln festzustellen ist, da der optimale Wirkungszustanddes Atmungssystemes entweder erreicht oder aber überschritten ist.

Vergleicht man nunmehr das Ergebnis der Abb. 10 mit dem der Abb. 11, so ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, *daß bei gleicher Versuchsdurchführung die Temperatur von etwa 30° C eine Grenze darstellt einerseits für eine Atmungssteigerung im Dunkeln durch die Temperatur und andererseits für die Stimulation der CO_2-Abgabe im Licht.*

Dieses übereinstimmende Ergebnis scheint besonders für die Beurteilung der Frage bedeutsam, ob es sich bei den im Licht gemessenen Stimulationen der CO_2-Entbindung um einen beschleunigten Atmungsprozeß handeln kann und soll daher an späterer Stelle noch eingehend diskutiert werden.

5. Die CO_2-Entbindung in ihrer Abhängigkeit von der Qualität der Strahlung.

Eingehende Literaturstudien, sowie die Ergebnisse der Vorversuche ließen es notwendig erscheinen, bei einer erneuten Prüfung des Lichtatmungsproblemes der Lichtqualität ein besonderes Augenmerk zu schenken. Dabei kann man in verschiedener Weise vorgehen:

1. Man verwendet *verhältnismäßig enge „monochromatische" Wellenbereiche*, indem man durch geeignete Filterkombinationen ganz bestimmte möglichst enge Bezirke des Spektrums herausschneidet und deren Wirkung studiert.

2. Man arbeitet im *Differenzfilterverfahren*, wobei man so vorgehen muß, daß eine Serie von Schottschen Farbgläsern derart zusammengestellt wird, daß sich ein Filter von dem vorhergehenden dadurch unterscheidet, daß es stets einen neuen kürzerwelligen Spektralbezirk *mehr* durchläßt als dieses.

Unter solchen Filtern wirken also mehrere Bezirke gleichzeitig, und man kommt dadurch den natürlichen Lichtverhältnissen wesentlich näher als dies bei den „monochromatischen" Filtern der Fall ist. Aus diesem Grunde wurde für die nachstehenden Versuche zunächst das Differenzfilterverfahren ausgewählt.

a) Differenzfilterversuche.

Versuchsanordnung. In den nachfolgenden Untersuchungen werden die im methodischen Teil der Arbeit beschriebenen 9 verschiedenen Filter verwendet (Tabelle 2), die so ausgewählt sind, daß jedes nachfolgende Filter das einwirkende Spektrum um etwa 40—70 mμ nach dem kürzerwelligen Bereich gegenüber dem vorhergehenden Filter erweitert. Die Grenze nach dem langwelligen Bereich ist in jedem Falle durch das Filter BG 17 gegeben, das die Strahlung oberhalb λ 800 μ nur noch unwesentlich durchläßt. Dabei wird bei der Auswahl der Filter darauf geachtet, daß nur solche verwendet werden, die einen bestimmten Wellenbereich möglichst steil abschneiden. Die einzelnen Spektralbereiche werden in der im methodischen Teil der Arbeit beschriebenen Weise energetisch angeglichen. Alle Versuche werden so durchgeführt, daß zunächst die Atmung im Dunkeln längere Zeit geprüft wird und dann erst das durch die entsprechenden Filter ausgewählte

Licht mehrere Stunden einwirkt. Dabei erfolgt laufend die Messung der CO_2-Abgabe. Stellt man das Ergebnis eines Versuches graphisch dar, so ergibt sich die Zeitkurve der CO_2-Entbindung in der Strahlung eines bestimmten Spektralbereiches. Diese Zeitkurven stimmen in allen Fällen hinsichtlich ihres Verlaufes als typische Optimumkurven mit denen unter Abschn. III, 1 beschriebenen überein.

Faßt man die Maxima der einzelnen Zeitkurven zu einer graphischen Darstellung zusammen, so ergibt diese Abbildung die im Differenzfilterverfahren ermittelte spektrale Wirkungskurve wieder, wie sie in einer vorläufigen Mitteilung von MONTFORT und ROSENSTOCK (1950) am Beispiel der Kartoffelscheiben bereits eingehend beschrieben wurde.

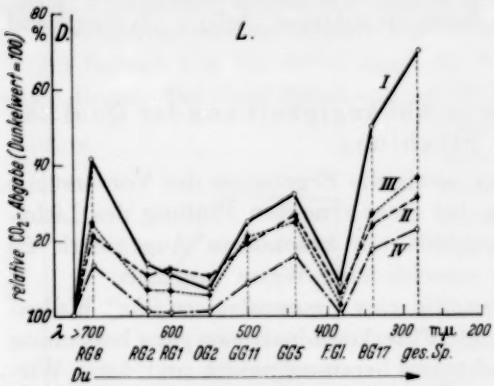


Abb. 12. Vergleich zwischen den im Differenzfilterverfahren ermittelten spektralen Wirkungskurven von 4 nichtassimilierenden Geweben. Die Maxima der einzelnen Zeitkurven der CO_2-Abgabe sind jeweils an der unteren Grenze der Durchlässigkeit des entsprechenden Filters eingetragen. Kurve I: Blätter aus der Zwiebel, Kurve II: Kartoffelscheiben, Kurve III: Kürbissamen, Kurve IV: Spargelscheiben.

Danach schien es jedoch notwendig zu prüfen, ob die dort beschriebenen Ergebnisse allgemein gültig sind. Spargelscheiben, Kürbissamen und Blätter aus der Küchenzwiebel wurden daher ebenso wie die Kartoffelscheiben in der erläuterten Weise untersucht. Die im Differenzfilterverfahren ermittelten spektralen Wirkungskurven dieser Objekte sind in der Abb. 12 zusammengefaßt.

Vergleicht man die Wirkungskurven der 4 untersuchten Objekte miteinander, so stellt man fest, daß in allen Fällen durch die rote Strahlung oberhalb λ 700 mμ die CO_2-Abgabe beschleunigt wird; ebenso wirkt die Zugabe grün-blauen Lichtes und ultravioletter Strahlung zu den jeweils vorher verwendeten längerwelligen Spektralbereichen stimulierend. Dagegen wird in allen Fällen die CO_2-Entbindung durch die Zugabe von rot-orange und violetter Strahlung nur unwesentlich oder überhaupt nicht beeinflußt.

Indessen ergeben sich hinsichtlich der unter den einzelnen Spektralbereichen erzielten Stimulationswerte zwischen den verschiedenen Objekten deutliche Unterschiede. Die Blätter der Zwiebel liefern ganz allgemein höhere Stimulationswerte als die Spargelscheiben. Dies gilt sowohl für die Werte der Förderungsbezirke als auch jener Bereiche, in denen die CO_2-Entbindung nur unwesentlich gesteigert wird. Während so die Zwiebelblätter unter Fensterglas, also bei Bestrahlung mit „weißem" Licht, noch einen Stimulationswert von 10% erreichen, ist bei den Spargelscheiben von einer Wirkung überhaupt nichts zu bemerken.

Kartoffelscheiben und Kürbissamen, deren Werte etwa in der gleichen Größenordnung liegen, zeigen durchweg eine Mittelstellung ihrer Werte zwischen denen der Zwiebelblätter und der Spargelscheiben.

b) Versuche mit verhältnismäßig engen „monochromatischen" Bereichen.

Das Auftreten von Förderungsbezirken und solchen Bereichen, in denen die CO_2-Abgabe nicht oder nur unwesentlich beeinflußt wird, innerhalb der spektralen Wirkungskurven ließ die Frage nach dem Zustandekommen solcher Bezirke auftauchen. Dabei konnte in erster Linie an eine antagonistische Strahlenwirkung zwischen den verschiedenen Wellenbereichen gedacht werden, wie solche Wirkungen durch die neuere Arbeit von KELNER an Pilzen (1949) wieder in den Vordergrund der Betrachtungen gestellt wurden. Um diese Frage einer Klärung näherzuführen, war es nötig, einzelne, verhältnismäßig enge „monochromatische" Bereiche für sich allein auf das Gewebe einwirken zu lassen.

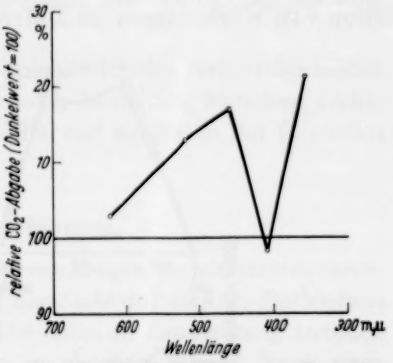


Abb. 13. CO_2-Entbindung von Kartoffelscheiben in energiegleicher Strahlung verschiedener Wellenlänge. Die ermittelten Werte sind etwa in der Mitte der verwendeten Spektralbereiche eingesetzt.

Versuchsanordnung. Unter Verwendung der im methodischen Teil der Arbeit beschriebenen Filterkombinationen (Tabelle 1) wird die Strahlung der Ultra-Vitalux-Lampe in 5 Wellenbereiche zerlegt, die hier kurz als „rot", „grün", „blau", „violett" und „ultraviolett" bezeichnet werden sollen. Alle Bereiche sind energetisch angeglichen. Als Versuchsobjekte dienen Kartoffelscheiben, die im Simultanverfahren untersucht werden. Stellt man die unter der Einwirkung der einzelnen Spektralbereiche erzielten maximalen Stimulationswerte in einer graphischen Darstellung zusammen, so ergibt sich das Bild der Wirkungskurve in Abb. 13.

Diese Abbildung zeigt, daß die *einzelnen Spektralbereiche für sich allein dargeboten eine deutlich verschiedene Wirkung ausüben.* Während der Rotbereich einen sehr geringen Stimulationswert von nur 3% liefert, ergibt der Grünbereich eine ausgeprägte Stimulation. Diese wird aber noch übertroffen durch die Bestrahlung mit vorwiegend blauem Licht, wobei ein Stimulationswert von 18% erzielt wird. Die folgende Untersuchung der Wirkung des Violettbereiches ergibt einen Wert, der innerhalb der Fehlergrenze unter dem anfänglichen Dunkelwert liegt. Die abschließende Einwirkung ultravioletter Strahlung zeitigt wiederum eine ausgeprägte Stimulation von 21,5%, bezogen auf den Dunkelwert.

Als Ergebnis dieser Versuchsreihe ist also festzustellen, daß die durch Verwendung verhältnismäßig enger „monochromatischer" Bereiche

gefundene spektrale Wirkungskurve mit der im Differenzfilterverfahren ermittelten hinsichtlich der Lage der Förderungsbezirke wie auch der wenig wirksamen Bereiche vollkommen übereinstimmt. Daraus ergibt sich, daß die im Differenzfilterverfahren ermittelten unterschiedlichen Wirksamkeitsbereiche nicht durch antagonistische Strahlenwirkungen zu erklären sind.

6. Vergleich zwischen den spektralen Wirkungskurven von Keimung und CO_2-Entbindung bei Kürbissamen.

Bei der Ermittlung der spektralen Wirkungskurve der CO_2-Stimulation von Kürbissamen im Differenzfilterverfahren waren hinsichtlich

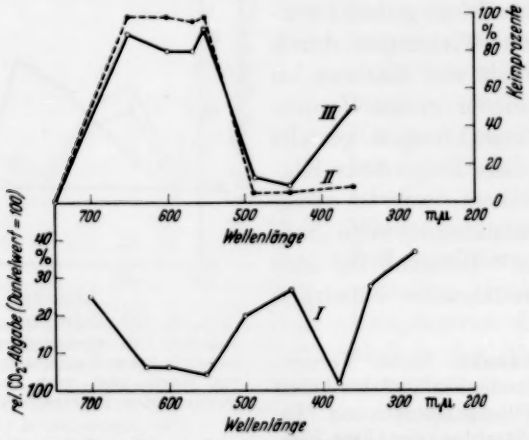


Abb. 14. Vergleich zwischen den spektralen Wirkungskurven von CO_2-Entbindung und Keimung bei Kürbissamen. Kurve I: Spektrale Wirkungskurve der CO_2-Entbindung. Kurve II: Spektrale Wirkungskurve der Keimung entschälter Kürbissamen, Kurve III: Spektrale Wirkungskurve der Keimung normaler Kürbissamen. Kurven II und III nach MEISCHKE (1936).

des Auftretens von Bereichen unterschiedlicher Wirksamkeit Übereinstimmungen mit der von MEISCHKE (1936) ebenfalls bei Kürbissamen gefundenen *Wirkungskurve der Keimung* festgestellt worden. Einem unmittelbaren Vergleich der beiden Wirkungskurven stellte sich aber zunächst die Tatsache entgegen, daß beide Kurven in einem verschiedenen Verfahren gewonnen wurden, in einem Falle unter Verwendung intensitätsgleicher Bereiche im Differenzfilterverfahren, bei MEISCHKE durch Verwendung intensitätsgleicher verhältnismäßig enger „monochromatischer" Bereiche. Die Tatsache aber, daß sich bei den vorher beschriebenen Versuchen eine vollkommene Übereinstimmung zwischen der im Differenzfilterverfahren ermittelten und der durch Anwendung „monochromatischer" Bereiche gefundenen Wirkungskurve ergeben hat, läßt es berechtigt erscheinen, die im Differenzfilterverfahren ermittelte Wirkungskurve der CO_2-Stimulation von Kürbissamen mit der von

MEISCHKE durch Verwendung „monochromatischer" Bereiche gefundenen Wirkungskurve der Keimung zu vergleichen. Allerdings muß einschränkend gesagt werden, daß die beiden Wirkungskurven mit ungleichen Lichtintensitäten ermittelt wurden.

Abb. 14 zeigt die beiden Wirkungskurven, wobei Kurve I die der CO_2-Entbindung, Kurve II die der Lichtkeimung (MEISCHKE) darstellt. Vergleicht man die beiden Kurven miteinander, so ergibt sich die überraschende Tatsache, daß alle jene Bereiche, die die Keimung fördern, keinen Einfluß auf die CO_2-Entbindung ausüben, während umgekehrt alle die Bezirke, die die Keimung hemmen, auf die CO_2-Entbindung fördernd wirken.

Der in dieser Abbildung dargelegte spiegelbildliche Verlauf der beiden Kurven legt den Gedanken einer kausalen Beziehung zwischen Lichtkeimung und Licht-CO_2-Entbindung nahe, und sie soll in der folgenden Diskussion erörtert werden.

IV. Schlußbetrachtungen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen an nichtassimilierenden Geweben liefern den Nachweis, daß das Licht auf die CO_2-Entbindung dieser Gewebe fördernd wirken kann. Die dabei in Erscheinung tretende Zeitreaktion verläuft in allen Fällen in gleicher Weise. Nach einer Stimulationsphase, in der die CO_2-Abgabe während der 1.—2. Belichtungsstunde stark zunimmt, folgt eine Ausgleichsphase, in der die Stimulation wiederum nachläßt. Eine solche im Gaswechselversuch gemessene CO_2-Zunahme im Licht kann entweder durch die vermehrte Ausscheidung von CO_2 im Zuge des beschleunigten Atmungsprozesses des Gewebes erfolgen oder aber durch die Freisetzung von im Dunkeln locker gebundenem CO_2 (SHAFER 1938).

Bei der Ermittlung der Zeitkurven der CO_2-Abgabe im Licht wurde eine weitgehende Übereinstimmung dieser Kurven mit jenen von MONTFORT und FÖCKLER (1938) an den gleichen Geweben, aber unter Messung der O_2-Aufnahme gewonnenen, festgestellt. Diese Übereinstimmung ging sogar so weit, daß unter Rekonstruktion der FÖCKLERschen Bestrahlungsverhältnisse die gleichen Stimulationswerte der CO_2-Abgabe ermittelt wurden, wie sie FÖCKLER für die O_2-Aufnahme gefunden hatte. Wenn dieser Befund infolge der verschiedenartigen Umweltsbedingungen der Gewebe während der Versuche — in einem Falle Wasser, im anderen Luft — keinesfalls Gesichertes über den Atmungsquotienten aussagen läßt, so ist es aber wahrscheinlich, daß es sich bei dem Vorgang, bei dem einerseits O_2 aufgenommen und andererseits — wahrscheinlich im gleichen Maße — CO_2 abgegeben wird, um einen Stoffwechselvorgang, die Atmung also, handelt.

Diese Feststellung erhält durch die Versuche über die Temperaturabhängigkeit einerseits der Atmung im Dunkeln und andererseits der Stimulation der CO_2-Abgabe im Licht ihre Bestätigung. Die Tatsache, daß sich in den in Abschnitt III, 4 beschriebenen Versuchen die Temperatur von 30° C als Grenzwert sowohl für eine Atmungssteigerung im Dunkeln durch die Temperatur als auch für das Auftreten einer Stimulation der CO_2-Abgabe im Licht herausstellt, macht es in hohem Maße wahrscheinlich, daß hier das gleiche System betroffen ist. Bei diesem dürfte es sich um das *Atmungssystem* handeln, es sei denn, man setzt voraus, daß auch das im Dunkeln nach der VAN'T HOFFschen Regel im Zuge der gesteigerten Temperatur abgegebene CO_2 kein Produkt der Atmung ist. Dafür liegen jedoch bis jetzt keine Beweise vor.

Eine andere Frage ist es nun, ob diese Atmung durch das Licht direkt oder aber durch eine Erwärmung infolge der Lichtabsorption gesteigert wird. Solche Erwärmungen sind, wie früher betont, für die in älteren Arbeiten festgestellten Atmungssteigerungen im Licht verantwortlich gemacht worden.

Die Versuche über die Temperaturabhängigkeit der Dunkelatmung von Kartoffelscheiben, bei denen zwischen 10° und 30° C eine Steigerung der Atmung durch Erhöhung der Temperatur nach der VAN'T HOFFschen Regel erfolgt, wobei $Q_{10} = 2$ ist, ergeben selbst unter Berücksichtigung einer Temperaturdifferenz zwischen Objekt und Medium (LÖWSCHIN 1908) rein rechnerisch die Unwahrscheinlichkeit einer maßgeblichen Wirkung der während der Belichtung beobachteten Temperatursteigerungen von maximal 0,2° C auf die Atmung. Den direkten Beweis dafür dürften jedoch die Differenzfilterversuche liefern. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß z. B. durch die Zugabe des violetten Lichtes zu dem längerwelligen sichtbaren Teil des Spektrums bei gleichbleibender Intensität eine *geringere* Wärmewirkung — wenn überhaupt — ausgeübt wird, als dies ohne diese violette Strahlung der Fall ist. Und dennoch wird durch die Zugabe dieses violetten Bereiches keine Atmungssteigerung erzielt, während bei Fehlen der violetten Strahlung eine ausgeprägte Stimulation der Atmung erfolgt. So spricht die im Differenzfilterverfahren ermittelte Wirkungskurve als ganze *gegen* die Temperaturwirkung. Wenn auch eine geringfügige Steigerung der Temperatur am Reaktionsort im Gewebe selbst als Folge der Strahlungsabsorption und damit zusammenhängend eine Zunahme der Atmungsrate nicht unmöglich erscheint, so dürfte diese Zunahme jedoch innerhalb des Fehlerbereiches liegen, und die geringfügigen Temperatursteigerungen können daher nicht für die zum Teil erheblichen Stimulationen der Atmung verantwortlich gemacht werden.

Es ist daher mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß es sich bei den im Licht gefundenen Reaktionen einer gesteigerten CO_2-Ent-

bindung um Lichtatmungsreaktionen handelt. Die Ergebnisse und Deutungen von MONTFORT und FÖCKLER (1938) werden damit grundsätzlich bestätigt.

Ob allerdings eine solche lichtbedingte Steigerung der Atmung im Versuch in Erscheinung tritt oder nicht, hängt, wie durch die vorliegenden Untersuchungen gezeigt werden konnte, von einem ganzen Faktorenkomplex ab. Dabei kommt der spektralen Zusammensetzung der Strahlung eine wesentliche Bedeutung zu. Es erscheint bedeutsam, daß den einzelnen Wellenbereichen eine sehr unterschiedliche Wirksamkeit zugesprochen werden muß. Daher wird es verständlich, wärum z. B. SAGROMSKY (1942) bei ihren Objekten im *monochromatischen roten und violetten Licht keine Atmungssteigerungen* beobachtete. Ob es aber gestattet ist, auf Grund der Untersuchung der Wirksamkeit nur zweier Spektralbereiche die umfassende Schlußfolgerung zu ziehen, „daß das Licht weder auf das normale Atmungssystem trotz der Farbstoffnatur einiger Atmungskatalysatoren, noch auf die allgemeine Stoffwechselaktivität anregend wirkt" (SAGROMSKY S. 324), erscheint fraglich, denn gerade jene von ihr nichtuntersuchten Bereiche, der grüne und blaue, erweisen sich für die Atmung als wirksam. Die Differenzfilterversuche geben in gleicher Weise Aufklärung darüber, warum auch im „weißen" Licht keine Atmungssteigerungen festzustellen sind.

Ob eine bestimmte Strahlung zur Wirksamkeit gelangt oder nicht, hängt eben nicht unwesentlich davon ab, ob in der verwendeten Strahlung jene Wellenlängen, die eine Förderung der Atmung bedingen, überwiegen oder nicht.

Doch zeigen die beschriebenen Versuche, daß die Reaktionen auch ganz verschieden ausfallen können je nach dem Vorleben der Gewebe, nach der Lichtintensität oder der Versuchstemperatur, und es erscheint nicht ausgeschlossen, daß noch andere, nichtuntersuchte Faktoren von Bedeutung sind. Aus der Tatsache, daß zwischen den Zeitkurven der CO_2-Entbindung ebenso wie zwischen den spektralen Wirkungskurven der einzelnen Objekte beträchtliche quantitative Unterschiede bestehen, wird ersichtlich, daß jedes Objekt für sich unter Berücksichtigung zahlreicher Faktoren zu untersuchen ist. Die Vernachlässigung dieser Notwendigkeit dürfte ein Grund sein für das Zustandekommen der sich so widersprechenden Ergebnisse und Deutungen der älteren Arbeiten.

Mit der Feststellung, daß es sich bei den im Licht gefundenen Reaktionen einer gesteigerten CO_2-Entbindung mit großer Wahrscheinlichkeit um Lichtatmungsreaktionen handelt, gelingt es nunmehr, dem Vergleich zwischen den in Abb. 14 dargestellten Wirkungskurven der Lichtkeimung und der Lichtatmung von Kürbissamen näherzutreten. Auf Grund dieser Gegenüberstellung der beiden Kurven könnte man

annehmen, daß eine spiegelbildliche Beziehung insofern besteht, als jene Bereiche, die eine Förderung der Atmung bewirken, die Keimung hemmen und umgekehrt. Allerdings wurde bereits betont, daß die Kurven unter Anwendung verschiedener Lichtintensitäten gewonnen wurden. Es wäre demnach zu prüfen, ob bei Verwendung gleicher Intensitäten für die Keimungs- und die Atmungsversuche auch ein gleichsinniger Verlauf der beiden Wirkungskurven zu konstatieren wäre.

Gleichgültig wie dies auch entschieden wird, erhebt sich doch in jedem Falle die Frage nach den kausalen Beziehungen zwischen Lichtatmung und Lichtkeimung. Beziehungen zwischen Atmung und Wachstum allgemein sind schon mehrfach beobachtet worden (COMMONER und THIMANN 1941, v. GUTTENBERG und LEHLE-JÖRGES 1947, RUGE 1947). Sie beruhen nach Ansicht der genannten Verfasser auf einer stofflichen Grundlage, wobei hauptsächlich an eine Wuchsstoffwirkung gedacht wird. Die Beobachtungen dieser Forscher werden durch die vorliegenden Untersuchungen über die Lichtatmung ergänzt, jedoch bedarf es weiterer eingehender Studien, um das Problem einer Klärung zuzuführen.

Zusammenfassung.

Die wichtigste Aufgabe der vorliegenden Arbeit war festzustellen, ob das Licht einen unmittelbaren Einfluß auf die CO_2-Entbindung nichtassimilierender Gewebe ausübt und wieweit ein möglicher Einfluß vom Vorleben der Gewebe, von der Temperatur und von der Qualität der Strahlung abhängig ist.

Diese Fragen werden an 5 verschiedenen farblosen Geweben mit Hilfe der verbesserten CO_2-Luftstrommethode untersucht. Die Arbeit zeitigte folgende Ergebnisse:

1. Alle Zeitkurven der CO_2-Entbindung im Licht zeigen das Bild der typischen Optimumkurve. Dagegen ergeben sich hinsichtlich der Stimulationsmaxima bei den verschiedenartigen Geweben Unterschiede.

2. Im Bereich der verwendeten Lichtintensitäten ergibt sich eine lineare Abhängigkeit zwischen Stimulation der CO_2-Abgabe und Lichtintensität.

3. Es besteht kein grundsätzlicher Unterschied zwischen der Reaktionsfähigkeit eines Dunkel- und eines Lichtgewebes. Umstimmungsversuche zeigen, daß ein Lichtgewebe nach Vorbehandlung mit Dunkelheit wie ein Dunkelgewebe reagieren kann, während sich umgekehrt ein Dunkelgewebe bei Vorbehandlung mit Licht so wie ein Lichtgewebe verhält.

Die Umstimmungszeit ist abhängig von der Intensität des während der Vorbehandlungszeit einwirkenden Reizes, wobei Tageslicht stärker wirkt als Dunkelheit.

4. Die Zeitkurve der CO_2-Entbindung ist in ihrem Verlauf von der Temperatur abhängig: Bei 10° C erfolgt eine Verzögerung der Stimulation, bei 30° C tritt gar keine Stimulation in Erscheinung.

Die Prüfung der Temperaturabhängigkeit der Dunkelatmung des gleichen Materiales zeigt, daß auch die Dunkelatmung oberhalb 30° C durch weitere Temperaturerhöhung nicht mehr oder nur vorübergehend gesteigert wird.

5. Die im Differenzfilterverfahren ermittelten Wirkungskurven sind in allen untersuchten Fällen gekennzeichnet durch 3 Stimulationsmaxima der CO_2-Abgabe. Das erste oberhalb λ 700 mμ, das zweite bei Zugabe der Wellenlängen von λ 500—430 mμ und das dritte bei weiterer Zugabe von Wellenlängen unterhalb λ 300 mμ zu dem jeweils vorher untersuchten längerwelligen Bereich. Zwischen diesen Förderungsbereichen liegen solche, in denen die CO_2-Entbindung nicht oder nur unwesentlich beschleunigt wird. Solche Bezirke kommen durch die Zugabe von rot-orange und violetter Strahlung zustande.

Die Gesamtheit der *sichtbaren* Strahlung, also „weißes" Licht, ist für die CO_2-Entbindung wirkungslos.

6. Die verschiedenen im Differenzfilterverfahren untersuchten Gewebe zeigen deutliche quantitative Unterschiede in ihrer Empfindlichkeit gegenüber der Einwirkung der einzelnen Spektralbereiche.

7. Die durch Verwendung verhältnismäßig enger „monochromatischer" Bereiche gewonnene spektrale Wirkungskurve stimmt mit der im Differenzfilterverfahren ermittelten hinsichtlich der Lage von fördernden und unwirksamen Bezirken überein.

8. Daher ist es möglich, die im Differenzfilterverfahren ermittelte Wirkungskurve der CO_2-Entbindung mit der durch Verwendung einigermaßen „monochromatischer" Bereiche gefundenen Wirkungskurve der Keimung von Kürbissamen (Meischke) zu vergleichen. Dabei zeigt sich, daß alle jene Bereiche, die für die CO_2-Entbindung unwirksam sind, auf die Keimung einen fördernden Einfluß ausüben, während umgekehrt jene Bezirke, die eine Beschleunigung der CO_2-Abgabe bedingen, die Keimung hemmen.

9. In der abschließenden Betrachtung werden die beschriebenen Untersuchungen in ihrer Bedeutung für die Frage der „Lichtatmungsreaktion" diskutiert sowie Deutungsmöglichkeiten für das Zustandekommen der unterschiedlichen Ergebnisse älterer Arbeiten erörtert.

Die vorliegende Arbeit wurde durch Herrn Prof. Dr. C. Montfort angeregt. Ich möchte ihm hierfür und seine Ratschläge meinen herzlichsten Dank sagen. Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. Egle, Frl. Wetterau, Frau Knappstein und der Firma *Voigt & Haeffner A.G.* für ihre freundliche Unterstützung.

Literatur.

Boysen-Jensen, P.: Planta (Berl.) **6**, 456 (1928); **21**, 386 (1934). — Bünning, E.: Die Physiologie des Wachstums und der Bewegungen. Berlin 1939. — Commoner, B., and Thimann: J. gen. Physiol. **24**, 279 (1941). — Denny, F. E.: Contrib. Boyce Thompson Inst. **14**, 257 (1947). — Föckler, H.: Jb. Bot. **87**, 45 (1938). — Gaffron, H.: Biol. Zbl. **59**, 302 (1939). — Gessner, F.: Jb. Bot. **85**, 267 (1937). — Planta (Berl.) **29**, 165 (1938). — Giese, C., and H. Swanson: J. cellul. a. comp. Physiol. **30**, 285 (1947). — Guttenberg, H. v., u. E. Lehle-Joerges: Planta (Berl.) **35**, 281 (1947). — Kelner, A.: Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **35**, 73 (1949). — Löwschin, A.: B.B.C., 1. Abt. **23**, 54 (1908). — Lundegårdh, H.: Klima und Boden in ihrer Wirkung auf das Pflanzenleben. Jena 1925. — Masure, M. P.: Bot. Gaz. **93**, 21 (1932). — Meischke, D.: Jb. Bot. **83**, H. 3 (1936). — Montfort, C.: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. 6, S. 267. 1932. — Montfort, C., u. H. Föckler: Planta (Berl.) **28**, 938 (1938). — Montfort, C., u. G. Rosenstock: Z. Naturforschg **5b**, 171 (1950). — Mothes, K., I. Baatz u. H. Sagromsky: Planta (Berl.) **30**, 289 (1939). — Ruge, U.: Planta (Berl.) **35**, 252 (1947). — Sagromsky, H.: Planta (Berl.) **33/34**, 299 (1942). — Shafer, J. j.: Plant Physiology **13**, 141 (1938). — Stiles, W., and K. W. Dent: Ann. of Bot., N. s. **11**, 1 (1947). — Stocker, O.: Pflanzenphysiologische Übungen. Jena 1942. — Weiling, J. F.: Jb. Bot. **89**, 157 (1940).

Dr. G. Rosenstock, Frankfurt a. M.,
Botanisches Institut, Senckenberg-Anlage 27.

Planta, Bd. 40, S. 93—111 (1951).

Aus dem Forstbotanischen Institut München.

ZUR MIKROTOPOGRAPHIE DER SAFTSTRÖME IM TRANSFUSIONSGEWEBE DER KONIFERENNADEL.

II. Mitteilung.

ENTWICKLUNGSGESCHICHTE UND PHYSIOLOGIE.

Von

GABRIELE HEIMERDINGER.

Mit 21 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Mai 1951.)

1. Einleitung.

Die vorliegende Arbeit bringt die von HUBER in der I. Mitteilung (1947) angekündigte Erweiterung und Ergänzung. Sie besteht aus 3 Teilen:

1. Zur Einarbeitung wiederholte ich zunächst die *anatomischen* Untersuchungen HUBERs, wobei mir zu 3 Punkten noch ergänzende Neubeobachtungen glückten (Teil A).

2. Weiterhin befaßte ich mich in der Hauptsache mit der *Entwicklungsgeschichte* der Kiefernnadel, um Herkunft und Differenzierung des Transfusionsgewebes klarzustellen (Teil B).

3. So vorbereitet, machte ich mich schließlich daran, den Saftströmen in der Nadel, zumal im Transfusionsgewebe, mit *fluoreszierenden Farbstoffen* nachzuspüren (Teil C).

Für alle Untersuchungen diente ausschließlich die Nadel der Österreichischen Schwarzkiefer (*Pinus nigricans*).

Für die Stellung des Themas und ständige Beratung danke ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. BRUNO HUBER; dem stellvertretenden Leiter der Botanischen Staatsanstalten in München-Nymphenburg, Herrn Professor Dr. K. SUESSENGUTH bin ich zu Dank verpflichtet, daß er Arbeitsplatz und Hilfsmittel von Institut und Garten zur Verfügung stellte.

Teil A. Beiträge zur Anatomie der fertigen Nadel.

1. Über Tüpfelverbindungen auf dem Wege der Assimilatwanderung.

a) Tüpfelung der Palisaden. Im Verlauf einführender Studien an der erwachsenen Nadel fiel mir im Querschnitt wie im Längsschnitt eine reiche Tüpfelung der Palisadenwände auf. Die Palisaden kommunizieren also in Quer- und Längsrichtung miteinander, was auf einen regen Stoffaustausch hinweist.

b) Tüpfelung von den Palisaden zur Endodermis. Weiter bemerkte ich zunächst auf Querschnitten eine deutliche Tüpfelung von den Palisaden zur Endodermis (Abb. 1). Um von dieser Tüpfelverbindung eine nähere, räumliche Vorstellung zu gewinnen, suchte ich sie auch in der Flächenansicht zu erfassen, was auf geeigneten Transversalschnitten unschwer gelang (Abb. 2). Es handelt sich um einfache oder 2—3feldrige Tüpfel. Im Querschnitt erscheinen sie als zarte Unterbrechungen der sonst ziemlich kräftigen Endodermiswand. Auch diese Tüpfelung läßt auf einen intensiven Stoffaustausch schließen. Die noch auffälligere Tüpfelverbindung von der Endodermis zum Transfusionsparenchym ist schon früher beschrieben worden

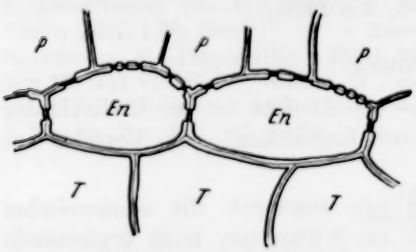


Abb. 1. Tüpfelung von den Palisaden (*P*) zur Endodermis (*En*) im Querschnitt. *T* Transfusionsgewebe.

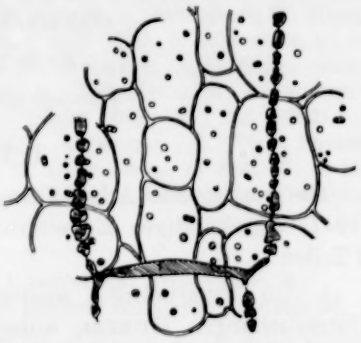


Abb. 2. Tüpfelung von den Palisaden zur Endodermis in einem oberen Transversalschnitt: Sicht durch die Endodermis (Wände schraffiert) auf die Palisaden.

(HUBER und die dort angeführte Literatur). Auch im Transfusionsgewebe selbst ist jede Parenchymzelle mit der folgenden wieder durch Tüpfel verbunden.

2. Durchlaßzellen der Sklerenchymscheide.

Schon STRASBURGER und vor allem MÜNCH halten ein Auf- und Abladen der Leitbündel nur an den Flanken für möglich, da die beiden Leitbündel brillenförmig von Scheiden umfaßt erscheinen, welche unterseits (an das Phloem grenzend) sklerenchymatisch, oberseits (am Xylem) zwar dünnwandig, aber verkorkt sind (PLAUT). Ich war daher nicht wenig überrascht, zu bemerken, daß die Sklerenchymscheide nicht lückenlos verläuft, sondern in gewissen Abständen eine Unterbrechung erfährt: Inmitten der Folge stark verholzter Sklerenchymzellen taucht plötzlich eine verhältnismäßig dünnwandige Zelle auf, die vermutlich dem Stoffaustausch dient (Abb. 3); wir werden darauf im physiologischen Teil noch zurückkommen. Leider gelang es mir trotz mehrfacher Bemühungen nicht, diese Durchlaßzellen im Längsschnitt zu erfassen.

3. Weitere Beobachtungen über den Ansatz von Transfusionsparenchym und Transfusionstracheiden an die Endodermis.

In Mitteilung I hat HUBER die Aufmerksamkeit auf die Tatsache gelenkt, daß die Parenchymzellen des Transfusionsgewebes bevorzugt der Mitte, die Tracheiden vorwiegend den Seitenwänden der Endodermiszellen aufsitzen. HUBER bewies diese Regel für die radiale Alternanz von Parenchym- und Tracheidenplatten (HUBER 1947, Abb. 2);

Abb. 3. Querschnitt durch den Sklerenchymschlauch mit Durchlaßstelle. Über dem Sklerenchym das Phloem des Leitbündels, darunter das Transfusionsgewebe.

da auf dem Querschnitt das Transfusionsgewebe doppelt so viele Zellen aufweist wie die Endodermis, tritt diese Gesetzmäßigkeit oft auf lange Strecken auffällig zutage.

Bei der Untersuchung zahlreicher Längsschnitte gewann ich nun den Eindruck, daß HUBERS Regel *auch für die Längsfolge* der Zellen gilt, d.h. in den der Mitte der Endodermiszellzüge radial aufsitzenden Platten kommt das Transfusionsparenchym wieder hauptsächlich unter die Mitte der Endodermiszellen zu liegen, während die oft kurzzelligen tracheidalen Brückenzellen (Verbindungen zwischen den den Endodermislängswänden aufsitzenden Tracheidenplatten) oft auf die Querwände der Endodermis stoßen (Abb. 4).

Deutlich kann diese Regel naturgemäß nur an den Flanken nachgewiesen werden, wo das Transfusionsgewebe kurzzelliger ist und daher auf die Höhe einer Endodermiszelle mehrere Zellen des Transfusionsgewebes kommen. Hier habe ich an 12 radialen Längsschnitten (medianen

Transversalschnitten nach HUBERs Terminologie) die Verteilung der Parenchymzellen abgezählt (Tabelle 1).

Eine weitere Schnittreihe ergab eine ganz ähnliche Verteilung: 68 Ansätze trafen auf die Mitte der Endodermis, 43 auf die Wand. In 8 Fällen überwogen die Ansätze auf die Mitte, 2mal die auf die Wand und 2mal war das Lageverhältnis gleich.

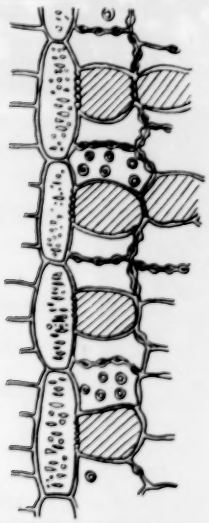


Abb. 4. Radialer Längsschnitt durch eine Flanke des Transfusionsgewebes: Die (schraffierten) Parenchymzellen sitzen bevorzugt an der Mitte, die (an den Hoftüpfeln kenntlichen) Tracheiden an den Querwänden der Endodermiszellen.

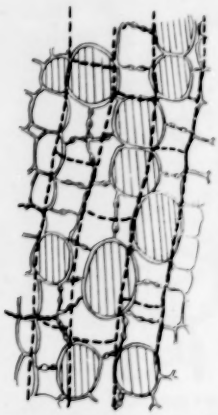


Abb. 5. Tangentialer Längsschnitt durch eine Flanke des Transfusionsgewebes: Durchsicht durch die (fett gestrichelte Endodermis) auf das Transfusionsgewebe, dessen Parenchymzellen (schraffiert) den Ansatz auf Endodermisquerwände weitgehend vermeiden.

Tabelle 1.

Die Parenchymzellen des Transfusionsgewebes sitzen auf der		
Endodermismitte		Endodermiswand
7	>	3
6	>	4
7	>	3
3	=	3
3	<	7
4	>	3
5	>	4
6	>	4
4	<	5
5	>	2
3	<	4
7	>	3
60	8mal > 1mal = 3mal <	45

Natürlich müßte die von mir aus Radialschnitten ermittelte Gesetzmäßigkeit auch in der Tangentialansicht zutage treten. Abb. 5 bringt die Ansicht eines solchen Längsschnittes durch die Flanken. Wir können hier in der Durchsicht durch die Endodermis den Ansatz der Parenchymzellen an 3 Längsreihen verfolgen und sehen, daß dabei Querwände weitgehend vermieden werden.

Die von HUBER für die Nadel*unterseite* veröffentlichten Bilder und Diagramme eignen sich zur Überprüfung unserer Gesetzmäßigkeit nicht, weil hier die Zellen des Transfusionsgewebes durchschnittlich so lang oder sogar länger als die der Endodermis sind und daher unterschiedslos fast jede Zelle des Transfusionsgewebes irgendwo von einer Endodermisquerwand durchschnitten wird.

Teil B. Entwicklungsgeschichte der Kiefernnadel, insbesondere des Transfusionsgewebes.

1. Fragestellung.

Das bisherige Schrifttum enthält, so weit wir es überblicken, kaum Angaben über die Entstehung des Transfusionsgewebes und seine Differenzierung in Parenchym und Tracheiden während der Entwicklung der Nadeln. Nur v. ABLEMA widmet der Anatomie von „jungen Nadeln aus den Knospen von *Pinus pungens*" einige Sätze (S. 370 f.), wobei er die späte Entwicklung des Xylems gegenüber dem Transfusionsgewebe hervorhebt. Über die Phylogenie des Transfusionsgewebes haben WORSDELL und BERNARD auf Grund vergleichender Untersuchungen zahlreicher Gymnospermen-Gattungen, besonders auch von CYCAS, DAGUILLON und ZIEGENSPECK auf Grund des Vergleichs von Jugend- und Folgenadeln mehr oder wenig begründete Vorstellungen entwickelt. Nach diesen Untersuchungen sollen die Transfusionstracheiden stammesgeschichtlich aus dem zentripetalen Holz der Cycadeen hervorgegangen sein, während für das Transfusionsparenchym unabhängig eine ganz andere Entstehung (aus dem Perizykel; VAN TIEGHEM) anzunehmen sei.

HUBER steht 1947 dem Gedanken einer verschiedenen Herkunft der beiden Schwesterelemente des Transfusionsgewebes zunächst mißtrauisch gegenüber; seine Feststellung, daß innerhalb der Endodermis das Transfusionsparenchym in der ersten, die Transfusionstracheiden in der zweiten und dritten Schicht angereichert erscheinen, veranlaßt ihn aber schließlich, WORSDELLs Hypothese in ernste Erwägung zu ziehen. Es war daher dringend erwünscht, Entstehung und Differenzierung des Transfusionsgewebes einmal auch in der Entwicklungsgeschichte der Einzelnadel zu verfolgen. Meine Untersuchungen konzentrieren sich auf dieses Ziel; bei der Spärlichkeit entwicklungsgeschichtlicher Angaben über die Koniferennadel überhaupt wurde aber auch die Entwicklung der übrigen Gewebe mitbeobachtet, schon deshalb, um Zeitmarken für die einzelnen Zustandsbilder zu gewinnen.

Außerhalb meiner Fragestellung liegt die Entstehung der Nadel am Vegetationspunkt, der Frl. KORODY, eine Schülerin BUDERS, eine sorgfältige Studie gewidmet hat. Bekanntlich besitzen die meisten Gymnospermen keine ungeteilt über den Vegetationspunkt laufenden Tunikaschichten, sondern ein tunikaloses Corpus, das durch zahlreiche perikline Teilungen auch Abkömmlinge ursprünglich oberflächlich liegender Initialen in beträchtliche Tiefe schiebt. Meine eigenen Befunde decken sich völlig mit dieser Vorstellung.

2. Methodik.

Die entscheidenden Stadien der Nadelentwicklung werden während des Maitriebs innerhalb weniger Tage (bei kühlem Wetter längstens etwa 2 Wochen) durchlaufen: In der ruhenden Knospe sind die Nadeln etwa 2 mm lang und nur in Urhaut und Urmesophyll differenziert (s. unten);

schon wenn die Nadeln etwa 5 mm lang geworden sind, ist die Zellteilungstätigkeit in der Hauptsache abgeschlossen und nur noch die Differenzierung der Tüpfel und Membranleisten in Gang.

Natürlich läßt sich die Entwicklung nicht an einer einzelnen Nadel zeitlich verfolgen; sie muß vielmehr durch den Vergleich verschiedenaltriger Nadeln erschlossen werden, wobei die Nadellänge einen ersten Anhaltspunkt für die Entwicklungsstadien liefert. Einer feineren Abstufung kommt der Umstand zugute, daß innerhalb der einzelnen Nadel die Differenzierung von der Spitze zur Basis und selbst auf dem einzelnen Querschnitt von der Unter- zur Oberseite und von der Mediane nach den Flanken fortschreitet. Auch die verhältnismäßig frühe Differenzierung der Palisaden, deren Plasma lange vor der Bildung der Membranleisten eine spinnenförmige Kontraktion erfährt, erleichtert die Orientierung.

Zur Ermittlung der Abstammungsfolgen in den Zellzügen dienten neben der Kernteilung selbst die durch ihre Zartheit gut kenntlichen neu eingezogenen Wände; sie sind in den Abbildungen dünner gezeichnet; die Abstammungsfolgen werden durch Pfeile gekennzeichnet.

3. Enstehung der einzelnen Gewebe.

a) Die Urhaut und ihre Spaltung in Epidermis und Hypodermis. Im ersten von mir erfaßten Stadium zeigt der Nadelquerschnitt eine Anzahl noch undifferenzierter „*Urmesophyllzellen*" von einer frühzeitig klar abgesetzten „*Urhaut*" (Protoderm) umgeben (Abb. 6). Diese Urhaut sondert sich später periklin in mehrere Schichten (Epidermis, Hypoderm usw.); Hand in Hand damit weitet sie sich auch durch *antikline* Teilungen: Während das erste von mir erfaßte Stadium auf dem Nadelumfang nur 22 Urhautzellen zählt, hat sich die Zahl der Zellreihen beim Erkennbarwerden der Spaltöffnungsmutterzellen bereits auf 46 vermehrt und erreicht im Stadium der Leistenbildung in den Palisaden 67, im Stadium der Tracheidentüpfelung im Transfusionsgewebe 80 und in der fertigen Nadel 95. Wenn die Nadel 5 mm Länge erreicht hatte, konnte ich in der Haut keine antiklinen Teilungen mehr beobachten.

Inzwischen hat, wie erwähnt, die Urhaut auch durch *perikline* Teilungen nach der Tiefe zu Tochtergewebe anderer Art abgespalten. Abb. 6 und 7 zeigen die *Abspaltung von Hypoderm* aus der Urhaut: Im abgebildeten Stadium liegen wenigstens auf der sich langsamer entwickelnden Nadeloberseite die Zellen der zweiten Lage ausgerichtet unter denen der ersten und sind an den durch Pfeile bezeichneten Stellen durch die Zartheit der Wände eindeutig als deren Abkömmlinge zu erkennen. Da aber in beiden Lagen auch antikline Teilungen weiterlaufen, verwischt sich diese klare Abstammungsfolge rasch.

b) Die Bildung der Spaltöffnungen. Anfangs haben die Zellen der Haut ziemlich gleiche Größe. Bei einer Nadelgröße von etwa 3 mm fallen erstmals einzelne

Zellen durch besondere Größe und Gestalt auf. Nach der weiteren Entwicklung handelt es sich um die Spaltöffnungsmutterzellen. Abb. 8a—c zeigt die weitere Differenzierung dieser Zellen zu Schließ- und Nebenzellen der Spaltöffnung.

c) Die Palisaden. Auch die dritte Zellschicht, aus der später die Palisaden hervorgehen, stammt nach einigen überzeugenden Bildern (Abb. 6 und 7) von der Urhaut ab. Der sichere Beweis wird freilich dadurch erschwert, daß in diesem frühen Stadium die späteren Palisaden,

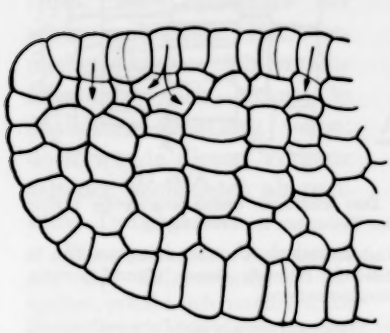


Abb 6.

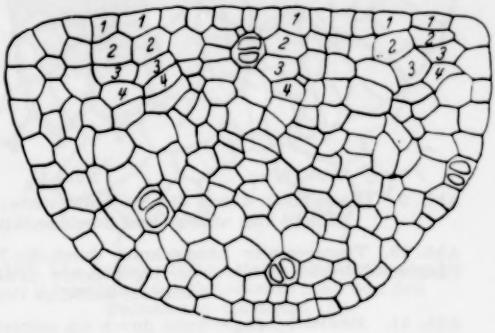


Abb. 7.

Abb. 6. Querschnitt durch eine sehr junge Nadelanlage, welche an den mit Pfeilen bezeichneten Stellen die Abspaltung hypodermaler Zellen aus der Urhaut zeigt.

Abb. 7. Querschnitt durch ein etwas späteres Stadium: Einige klare perikline Zellteilungsfolgen durch die Ziffern *1—3* bzw. *1—4* bezeichnet, gerade im Gange befindliche Zellteilungen durch Doppelprotoplaste angedeutet.

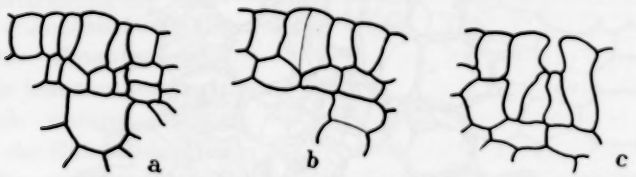


Abb. 8 a—c. Entwicklung der eingesenkten Spaltöffnungen (Querschnittbilder).

bzw. deren Mutterzellen von anderen Zellen noch in keiner Weise unterschieden sind.

Eindeutig faßbar war die — vorwiegend perikline — Weiterteilung dieser dritten Schicht, durch welche das spätere Palisadengewebe mehrschichtig wird (Abb. 9). Wenig später erfolgt auch die auf Querschnitten nicht erkennbare *Querteilung*, durch welche die von allen anderen Geweben der Nadel so auffällig abweichende Palisadengestalt dieser Zellen zustande kommt. Auf transversalen Längsschnitten durch die Nadeloberseite konnte ich dieses bemerkenswerte Stadium erfassen (Abb. 10 und 11).

In diesem Zeitpunkt sind die Palisadenzellen bereits durch ihre höchst auffällige *Plasmabeschaffenheit* unverwechselbar kenntlich: Das Plasma wird vom Rande her vakuolisiert, während es sich um den

zentralen Zellkern buchtig ballt; der Kern sitzt so wie eine Spinne in einem Plasmanetz, das allseits zähe Fäden — räumlich betrachtet handelt es sich um Lamellen — nach der Zellwand spannt (Abb. 10 und 12).

Abb. 9.

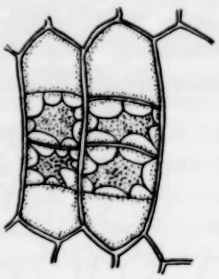


Abb. 10.

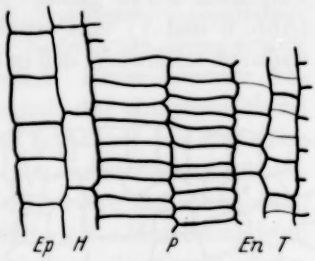


Abb. 11.

Abb. 9. Querschnitt durch die Nadelunterseite: Das künftige Palisadengewebe (dritte Schicht von außen) wird durch perikline Teilungen mehrschichtig.

Abb. 10. Transversaler Längsschnitt durch die Nadeloberseite, Palisadenmutterzellen in Tangentialansicht: Beginn der eigentlichen „Palisaden"-Bildung durch Querfächerung. Beachte die auffällige Protoplastenform.

Abb. 11. Radialer Längsschnitt durch ein späteres Stadium (noch ohne Interzellularen), die sehr unterschiedliche Zellhöhe in Epidermis (*Ep*) Hypoderm (*H*), Palisaden (*P*), Endodermis (*En*) und Transfusionsgewebe (*T*) zeigend.

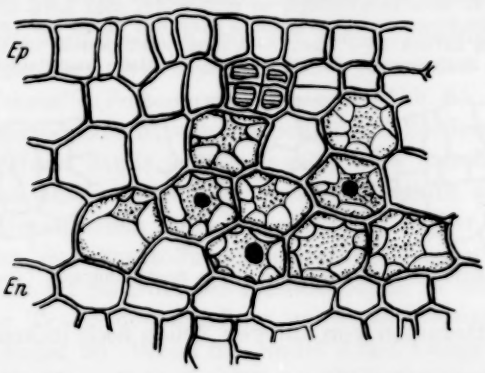


Abb. 12. Ausschnitt aus einem Querschnitt der Nadeloberseite (*Ep* Epidermis, *En* Endodermis), die auffälligen Plasmanetze in den Palisaden zeigend.

Aus diesen Plasmalamellen setzen sich später die bekannten *Membranleisten* ab, deren Bildung schon REINHARDT eingehend beschrieb.

d) Die Entwicklung der Harzgänge. Die Harzgänge entstehen nicht gleichzeitig, sondern nacheinander: Als erste tauchen die der beiden Kanten auf; später treten weitere in regelmäßigen Abständen dazu. Die Entwicklung verläuft folgendermaßen: Eine Mesophyllzelle, die durch Größe hervorgehoben ist, beginnt sich radial zu teilen, zunächst zu vier, dann zu 8 Zellen. Darauf folgt durch tangentiale Teilung die Abscheidung des späteren Sklerenchymrings. Das schizogene Auseinanderweichen der Drüsenzellen beginnt schon im Vierzellstadium.

e) Die Endodermis. Die Endodermisbildung beginnt an der Nadelunter- und -oberseite median und schreitet flankenwärts fort; die Zellen des Saumes schließen zuletzt das perlschnurartige Oval. Zunächst ist also der Endodermisverlauf in seiner Gesamtheit noch nicht zu übersehen.

Die Endodermis geht eindeutig aus den noch nicht quergefächerten Palisadenmutterzellen hervor. Ihr Alternieren gegenüber diesen ergibt sich aus schräger Abspaltung (Abb. 13). Innerhalb der schon gebildeten Endodermiskette können sich einzelne Elemente noch einmal in antikliner Richtung teilen; doch wurde dieser Vorgang seltener beobachtet als perikline Teilungen.

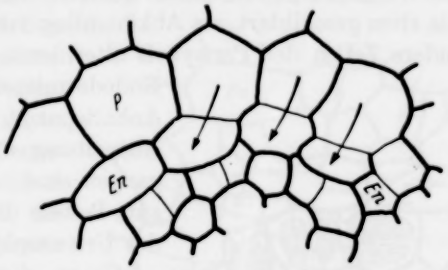


Abb. 13. Ausschnitt aus einem Nadelquerschnitt: Abspaltung der Endodermis (*En*) von den Palisadenmutterzellen (*P*).

Wenn sich die Endodermis aus der Palisadenschicht abspaltet, erhebt sich natürlich die Frage, wann sich dann die auf dem Längsschnitt der fertigen Nadel so auffällige Höhendifferenz zwischen Palisaden und Endodermis herausbildet: Sie folgt aus der schon besprochenen nachträglichen Querfächerung der Palisadenmutterzellen (Abb. 10 und 11).

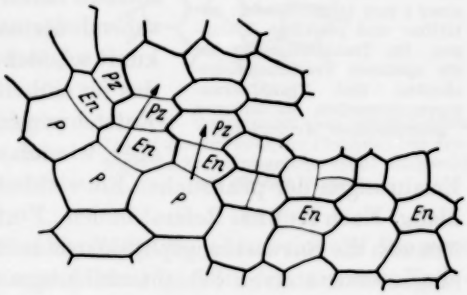


Abb. 14. Ausschnitt aus dem Querschnitt einer 3—4 mm langen Nadel (Nadelunterseite): Abspaltung von Endodermis und Perizykel (*Pz*) aus den Palisaden-Mutterzellen (*P*); Pfeile geben die Teilungsfolgen an.

f) Das Transfusionsgewebe. Wir kommen nun zum Kernstück unserer Fragestellung, der Entstehung des Transfusionsgewebes. Dieses Hauptproblem wird in 3 Schritten dargelegt: α) Entstehung, β) Verdoppelung und γ) Differenzierung.

α) Entstehung. Im Verlaufe der Endodermisbildung, d. h. noch bevor sich die Endodermiszellen zu einem geschlossenen Ring differenziert haben, setzt vereinzelt, bevorzugt an den Flanken, die Bildung des Urtransfusionsgewebes ein: Bei einer Nadellänge von 3—4 mm spalten sich von den noch teilungsfähigen Endodermiszellen zentripetal Tochterzellen ab, welche in Abb. 14 als Perizykel (*Pz*) bezeichnet sind und später einen Teil des Transfusionsgewebes liefern. Dieses geht aber nicht nur aus solchen Endodermisabkömmlingen hervor, sondern differenziert sich zum Teil unmittelbar aus den Urmesophyllzellen, die schon im frühesten von mir erfaßten Stadium innerhalb der Urhaut lagen (s. oben Abb. 6).

In dem Maße, wie sich die Urhaut in Epidermis, Hypoderm, Palisaden, Endodermis und Perizykel sondert, zeigt auch das Urmesophyll zahlreiche peri- und antikline Teilungen. Einen Teil der dabei gesehenen Bilder kann ich nicht anders als durch die Annahme deuten, daß die allmählich erkennbar werdende Schicht des Transfusionsgewebes sowohl von außen wie von innen aufgebaut wird: Sobald nämlich Endodermiszellen überhaupt erkennbar werden, liegt zwar ein Teil des Perizykels, wie eben geschildert, als Abkömmling von Endodermiszellen *vor* diesen; andere Zellen des Perizykels alternieren aber von Anfang an mit den Endodermiszellen, und ich konnte keinerlei Anhaltspunkt dafür gewinnen, daß sie durch Abspaltung aus der Endodermis hervorgegangen sind. Solche Zellen möchte ich bis zum Beweis des Gegenteils für Abkömmlinge des Urmesophylls halten.

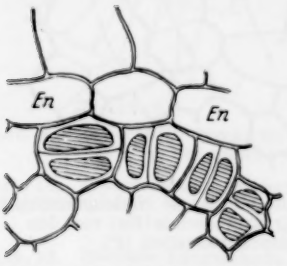


Abb. 15. Aus dem Querschnitt einer 4 mm langen Nadel: antikline und perikline Teilungen im Transfusionsgewebe; die späteren Transfusionstracheiden und Transfusionsparenchymzellen entstammen gemeinsamen Mutterzellen.

Gegen diese Annahme, daß das Transfusionsgewebe nicht erst in seiner späteren Differenzierung in Tracheiden und Parenchym, sondern bereits als gleichförmig erscheinende subendodermale Schicht von zweierlei Herkunft sei, sträubt sich zunächst unser Gefühl, das für einheitliche Gewebe auch einheitliche Entstehung fordert. Meine Feststellung steht aber, wie ich nachträglich sehe, mit neueren Erfahrungen der pflanzlichen Entwicklungsphysiologie durchaus in Einklang. Nach HUBERs Referat in den „Fortschritten der Botanik" **12**, 208, löst sich die Entwicklungsphysiologie immer mehr von den alten Vorstellungen einer starren Schichtenbildung am Vegetationspunkt und macht für die Gewebedifferenzierung die Wechselwirkung des gesamten Gewebefeldes verantwortlich: So entstehen nach künstlichen Einschnitten in den Vegetationspunkt Prokambiumstränge nicht mehr an den gewöhnlichen Stellen, sondern in gesetzmäßigem Abstand von der neugeschaffenen Oberfläche. Auch RENNER (1936) und seine Schülerin THIELKE (1948) haben in ihren Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte panaschierter Blätter dank der klaren Sonderung grüner und nichtgrüner Gewebe eindeutig feststellen können, daß das Mesophyll nicht ausschließlich aus dem Grundgewebe hervorgeht, sondern zum Teil auch durch perikline Teilungen vom Dermatogen abgespalten werden kann. So wird offenbar auch die Entstehung des Perizykels innerhalb der Endodermis in einer ganz bestimmten Tiefe erzwungen, gleichgültig, ob die hier liegenden Zellen ursprünglich durch Abspaltung von außen oder von innen hervorgingen. Wenn sich diese Auffassung bestätigt, würden sich mit einem Schlage die vielen Widersprüche lösen, die sich seit Jahr-

zehnten durch das entwicklungsgeschichtliche Schrifttum ziehen, in welchem der Perizykel bald als Abkömmling des Stranggewebes (des Pleroms), bald als Schwesterbildung von Rinde und Endodermis (Periblem) bezeichnet wird (vgl. dazu das Sammelreferat ESAU).

β) Zellvermehrung. Bei der Weiterentwicklung des Transfusionsgewebes unterscheiden wir zweckmäßig die Verhältnisse der Nadel*mitte* (ober- und unterseits der Leitbündel) von denen an den *Flanken*.

In der Mitte der Nadel teilen sich die Zellen des Urtransfusionsgewebes peri- und antiklin weiter. Während die periklinen Teilungen die Zahl der Schichten im Transfusionsgewebe vermehren, bewirken antikline Teilungen, daß sich die anfänglich mit der Endodermis übereinstimmende Zellenzahl verdoppelt, was für die spätere Differenzierung in Transfusionsparenchym und Transfusionstracheiden wichtig wird. Diese tangentiale Zellvermehrung erfolgt sehr früh, teilweise schon gleichzeitig mit der Absetzung der Endodermis, so daß die Verdoppelung oft schon vollzogen ist, wenn die Endodermis als solche kenntlich wird.

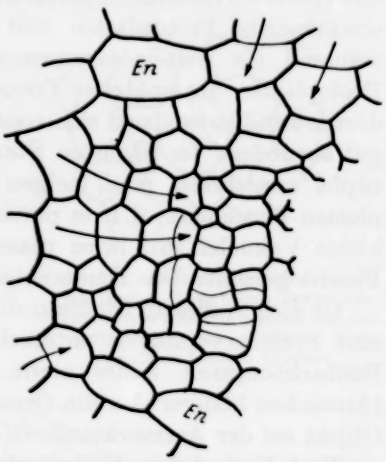


Abb. 16. Querschnitt vom entstehenden Transfusionsgewebe der Flanken: Die zentripetale Zellteilungsfolge stößt senkrecht auf die des Bündels.

In der Entwicklung der Flanken fällt vor allem ein viel längeres Anhalten perikliner Teilungen auf (Abb. 16): Von den meisten Endodermiszellen laufen Züge von Tochterzellen zentripetal einwärts gegen das sich dort gleichzeitig differenzierende Bündel (Abb. 16). Über die Herkunft dieser Zellzüge von der Endodermis kann kein Zweifel bestehen; sie gehören keinesfalls zum Stranggewebe, was auch noch an der fertigen Nadel in der geringen axialen Länge dieser Zellen zum Ausdruck kommt (vgl. schon HUBER 1947). Gegenüber diesen zahlreichen periklinen Teilungen treten antikline an den Flanken in den Hintergrund; daher kommt es hier selbst in der fertigen Nadel nicht immer zu einer so klaren Verdoppelung der Zellzahl des Transfusionsgewebes gegenüber der Endodermis wie auf der Ober- und Unterseite.

γ) Differenzierung. Der dritte und letzte Schritt in der Entwicklung des Urtransfusionsgewebes ist die Differenzierung der zunächst gleichförmigen Zellen in Transfusionstracheiden und Transfusionsparenchym.

Diesen Schritt habe ich noch nachträglich im Frühjahr 1950 vor allem an Längsschnitten weitgehend aufklären können: Bei einer

Nadellänge von etwa 5 mm erweist sich nach Plasmolyse mit 1,2 molaren Mischlösungen von 0,9 KCl + 0,1 $CaCl_2$ der Spitzenteil der Nadel bereits fertig differenziert (Transfusionstracheiden mit fertigen Hoftüpfeln, ohne Plasma, daher nicht plasmolysierbar), die Basis noch undifferenziert (gleichmäßige Konvex-Plasmolysen in allen Zellen des Transfusionsgewebes); in der Übergangszone lassen sich immer wieder 2 *Frühstadien der Differenzierung* erkennen: Zunächst fällt auf, daß das spätere Transfusionsparenchym plasmareichere, etwas grünlichgelb erscheinende Protoplasten mit allseits konvexer Rundung enthält, während die weit plasmaärmeren und daher farblos erscheinenden Protoplasten der späteren Transfusionstracheiden meist an der Endodermiswand haften und sich nach innen nicht immer gleich schnell und gut abrunden. Im nächsten Stadium, in welchem bereits einzelne Hoftüpfel ausgebildet sind, neigen die Transfusionstracheiden zu Tonoplasten-Plasmolyse, d. h. es persistieren bei der Plasmolyse nur ziemlich kleine Vakuolen mit ihren plasmatischen Hüllen, während das übrige Plasma gerinnt. Die Kerne zeigen allerlei Degenerationsformen.

Ob sich in diesem Stadium die beiderlei Zellen auch in Permeabilität und Speichervermögen unterscheiden, konnte wegen der Kürze der Beobachtungszeit leider nicht mehr endgültig entschieden werden (Anzeichen höherer Acridin-Orange-Aufnahme in die Tracheiden). Das Objekt sei der Aufmerksamkeit der Zellphysiologen empfohlen.

Nach Verlust des plasmatischen Inhaltes bereitet die Unterscheidung der beiden Zellsorten natürlich keine Schwierigkeiten: Die toten Tracheiden besitzen verholzte, hofgetüpfelte Wände und wäßrigen Inhalt; unter dem Druck der lebenden Schwesterzellen erscheinen sie vielfach eingedellt. Die lebenden Parenchymzellen dagegen sind plasmareich und auffallend turgeszent gegen die Tracheiden vorgewölbt; mit ihresgleichen und der Endodermis sind sie durch einfache Tüpfel verbunden.

Die Hypothese WORSDELLS von der unabhängigen Entstehung von Transfusionsparenchym und Transfusionstracheiden findet in der Ontogenese keine Stütze. Die beiden Zellelemente entstehen vielmehr aus gemeinsamen Mutterzellen und differenzieren sich anatomisch und physiologisch erst in fortgeschrittenen Stadien. Die Feststellung eines ontogenetisch gemeinsamen Ursprungs der beiden Gewebe schließt freilich eine phylogenetisch verschiedene Herkunft nicht unbedingt aus.

g) Skleremchymbildung. Auch der Sklerechymschirm der Nadelunterseite geht im Zuge der periklinen Teilungen, welche das zunächst einschichtige Urtransfusionsgewebe mehrschichtig machen, durch Abgliedern aus der inneren Transfusionsgewebeschicht hervor (Abb. 17).

h) Das Leitbündel. Sieb- und Holzteil des Bündels entstehen aus dem Prokambium. Zunächst unterscheiden wir nur *ein* Bündel, das

später durch Einschieben eines Gewebekeiles zweigeteilt wird. Damit wiederholt sich in der Ontogenie der einzelnen Kiefernnadel ebenso wie beim Übergang vom Keimblatt zur Primär- und Folgenadel (ZIEGENSPECK) die Phylogenie, welche nach der heute herrschenden Ansicht von Kiefern mit einheitlichem Leitbündel in der Nadel (Untergattung *Haploxylon*) zu solchen mit doppeltem Leitbündel führt (Untergattung

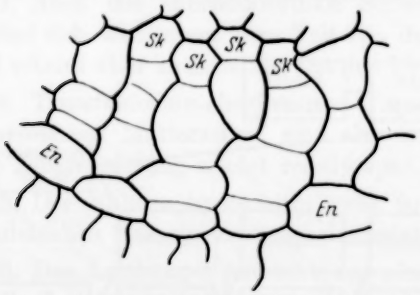


Abb. 17. Aus dem Querschnitt einer 3 mm langen Nadel (Nadelunterseite): Abspaltung des Sklerenchymschirms (*Sk*) aus dem Transfusionsgewebe.

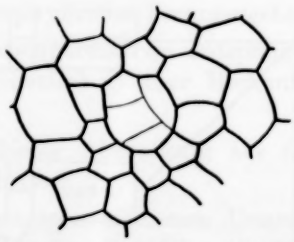


Abb. 18. Aus dem Querschnitt einer 3 mm langen Nadel (Nadelmitte): Die Bildung des Bündels beginnt mit der Unterteilung einer einzigen Zelle (dünn gezeichnete Wände).

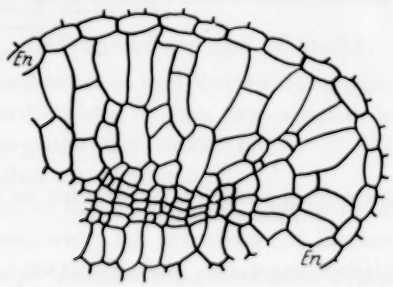


Abb. 19. Aus dem Querschnitt einer 7 mm langen Nadel: Bündel noch einheitlich (haploxyl).

Diploxylon; vgl. PILGER). Frau B. LEDERER, geb. SCHRAGMÜLLER, hat inzwischen in unserm Institut die schöne Beobachtung gemacht, daß infolge des basalen Fortschreitens der Nadeldifferenzierung *auch in der fertigen Kiefernnadel die Spitze haploxyl* ist; die Spaltung des Bündels findet sich etwa 2—3 mm unter der Spitze.

Die Entwicklung des Bündels beginnt bei einer Nadelgröße von etwa 3 mm und geht von einer einzigen Zelle aus (Abb. 18). Bei einer Nadellänge von 4 mm weist das Bündel bereits 3—7 Zellagen auf (Abb. 19). Eine Zerklüftung durch Markstrahlen ist erst im Stadium der Palisadenbildung zu erkennen.

Das Auffälligste an dieser ganzen Entwicklungsfolge ist *das zentripetale Fortschreiten der Hauptteilungswelle*, das geradezu an eine kambiale

Teilungstätigkeit gemahnt und nacheinander zur Differenzierung von Epidermis, Hypodermis, Palisaden, Endodermis, Transfusionsgewebe und Sklerenchym führt (Abb. 20). Das zweite Eigenartige ist, wie dieses Tieferrücken der Teilungszone den Charakter der entstehenden Gewebe ändert: *Während die antiklinen Teilungen vorwiegend als äquale Teilungen die*

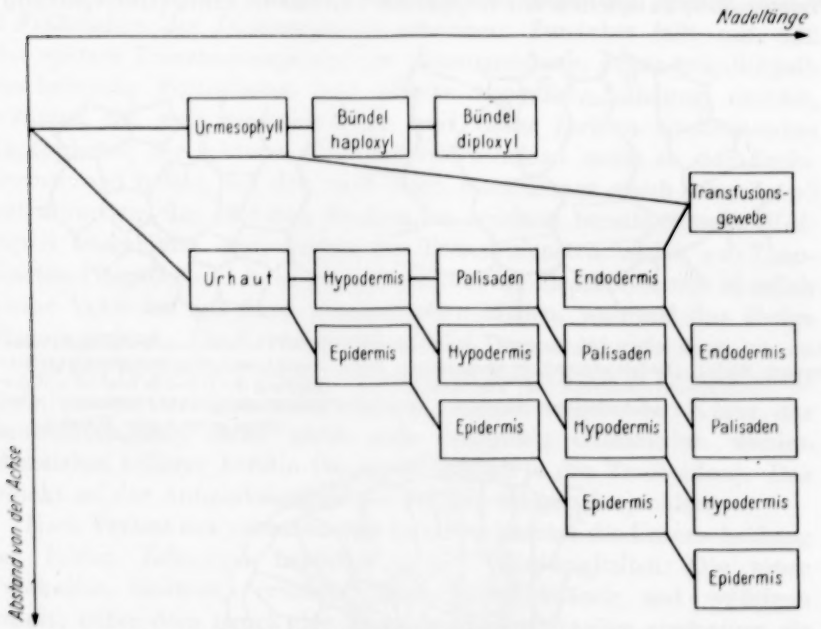


Abb. 20. Schema der allmählichen periklinen Entfächerung der Gewebeschichten beim Nadelwachstum.

Zellenzahl ihrer Schichten vermehren (Ausnahmen: Spaltöffnungen innerhalb der Epidermis, Harzkanäle innerhalb der Palisadenschicht, Differenzierung des Transfusionsgewebes in Parenchym und Tracheiden), *führen die periklinen Teilungen vorwiegend zu inäqualen Abkömmlingen* und nur in der Palisaden- und Transfusionsgewebslage zu einem Mehrschichtigwerden einigermaßen gleichartiger Gewebe. Es liegt daher wohl nahe, der Entfernung von der Oberfläche (Sauerstoffspannung?) bei dieser Gewebedifferenzierung eine besondere Rolle zuzuschreiben.

Zusammenfassung.

Die Befunde dieses Abschnittes lassen sich, wie folgt, kurz zusammenfassen:

1. Die vom tunikalosen Corpus ausgehende Entwicklung zeigt im ersten Stadium der Differenzierung eine deutlich abgesetzte Urhaut

(Protoderm) aus großquadratischen Zellen und gleichartige undifferenzierte Urmesophyllzellen.

2. Die weitere Differenzierung schreitet hauptsächlich zentripetal fort: Aus dem Protoderm gehen in perikliner (und zugleich antikliner) Teilung Hypoderm und Palisaden hervor; auch die Endodermis ist ein Abkömmling der Palisaden.

3. Auch die subendodermale Schicht, das Urtransfusionsgewebe, spaltet sich wenigstens zum Teil von der Endodermis ab; ein weiterer Teil scheint aber unmittelbar aus den Urmesophyllzellen hervorzugehen.

4. Transfusionstracheiden und Transfusionsparenchym entspringen gemeinsamen Mutterzellen, sind also ontogenetisch gleicher Herkunft; ihre Differenzierung erfolgt relativ spät.

5. Der Sklerenchymschirm geht in schiefer Abspaltung aus der bündelnahen Transfusionstracheidenplatte hervor.

6. Das Leitbündel entsteht aus einer einzigen medianen Urmesophyllzelle, ist zunächst einsträngig (haploxyl) und spaltet sich erst später in die 2 Stränge der fertigen Nadel.

Teil C. Fluoreszenzoptische Betrachtungen der Saftströme.

1. Fragestellung und Methodik.

Nachdem wir die Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Kiefernnadel kennen gelernt haben, wollen wir abschließend versuchen, die physiologischen Vorgänge der Saftströme mit Hilfe fluoreszierender Farbstoffe unmittelbar zu verfolgen.

Zur Methodik ist zu sagen, daß der *Transpirationsstrom* verhältnismäßig leicht zu fassen war: Ich arbeitete mit Berberinsulfat 1:100 und Kaliumfluoreszein 1:1000. Nadeln aus stark belichteten Kronenteilen wurden samt dem Kurztrieb nach STRUGGERs Vorbild so in farbstofferfüllte Mikrovasen gestellt, daß die Lösung durch den Trieb und nicht etwa auf dem Wege seitlicher Benetzung aufgenommen wurde. Zur Erhöhung der Transpiration wurden die Versuche möglichst dem Sonnenlicht ausgesetzt. Nach etwa 1 Std wurde wurde auf Quer- und Längsschnitten geprüft, wie weit die Färbung bereits vorgedrungen war. Legt man die Schnitte in Paraffinöl, so bleibt die Färbung stundenlang erhalten.

Größere Schwierigkeiten bereitete die Einführung von Fluoreszein in die lebenden *Assimilatleitbahnen*: Während als Einführung SCHUMACHERs Grundversuch mit *Pelargonium* sofort reproduziert werden konnte, leuchtete in der Kiefernnadel, wenn Kaliumfluoreszein 1:1000 in Gelatine den Palisaden der Nadelunterseite durch Anschnitt verabreicht wurde, das Xylem alsbald auf, während das Phloem dunkel blieb.

Um diese Rücksaugung des Farbstoffs in die Wasserleitbahnen zu unterbinden, mußte über die Schnittwunde zunächst ein wassergefülltes Glasröhrchen gestülpt werden; wenn auf diese Weise eine gewisse Wassersättigung der Gewebe erreicht war, konnte nach 40 min das Fluoreszein mit Erfolg verabreicht werden: Ich erhielt wie SCHUMACHER eine selektive Färbung der Assimilatleitbahnen (Palisaden, Endodermis, Transfusionsparenchym, Phloem).

2. Der Transpirationsstrom.

Sobald ich die Fluoreszenzfärbung des Transpirationsstromes verläßlich beherrschte, ging ich zu einer zeitlichen Erfassung des Färbeverlaufes über: Zu diesem Zwecke wurde die Nadel in Abständen von je 1 cm markiert und nach einer Anfärbungsdauer von 40 min nach der Farbstromspitze gesucht, wie nachstehendes Protokoll veranschaulicht.

Versuchsprotokoll: Färbung 8,50—10,05 Uhr mit Berberinsulfat 1:100; anschließend Querschnitte in Paraffinöl untersucht. 1.—3. Schnitt von der Nadelspitze absteigend ohne Befund.

4 cm von der Spitze leuchten 4 Xylemzellen des einen Bündels nahe am Kambium, in den folgenden Schnitten 8 bzw. 22 Xylemzellen.

5 cm von der Spitze: Auch das zweite Bündel, Tracheidensaum und Sklerenchymbelag einschließlich Durchlaßzelle leuchten; von der Durchlaßzelle geht ein Leuchtstrom zur Endodermis (Abb. 21).

6 cm von der Spitze Transfusionstracheiden der Flanken leuchten bis zur Endodermis, in der Endodermis besonders die Radialwände.

7 cm von der Spitze leuchtet die gesamte Endodermis, ebenso Palisadenwände, in der Nähe der Nadelbasis auch die Hypodermis.

Zur Unterstützung der Protokolle zeichnete ich die jeweiligen Beobachtungen in vervielfältigte Nadelquerschnittsbilder ein; aneinandergereiht, ergeben diese Blätter eine lückenlose Folge des Stromverlaufes, den wir nun im Einzelnen betrachten wollen:

Wenn wir von der Spitze der Nadel der Basis entgegenschneiden, begegnen wir anfangs nur der ziemlich auffälligen *Eigenfluoreszenz* der Nadel: Phloem bläulich, Xylem schwach gelb, ebenso das Transfusionsgewebe, Chloroplasten der Palisaden rot. Ungefähr im zweiten Viertel der Nadel stoßen wir auf die Spitze des Farbstromes: Eine, zwei, drei kambiumnahe Xylemzellen leuchten hellgelb; der Ort des ersten Aufleuchtens wechselt, bald erscheint die Stromspitze näher dem Innenrand, bald näher den Flanken.

Der Nadelbasis zu verbreitert sich das goldgelbe Xylemleuchten sowohl sagittal wie transversal; während die Markstrahlen dunkel bleiben, erfaßt die Färbung die Transfusionstracheiden besonders am Leitbündelsaum. Bald ist der gesamte Tracheidensaum bis zur Endodermis vom Farbstrom erfaßt, während *Transfusionsparenchym und Strasburgerzellen ebenso wie Phloem und Markstrahlen im Leitbündel dauernd dunkel* bleiben. Allerdings leuchten die Transfusionstracheiden nie so intensiv

wie das Xylem, was im Lichtbild (Abb. 21) noch mehr auffällt als bei unmittelbarer Beobachtung. Diese Erscheinung beruht zweifellos nur auf der unterschiedlichen Schichtdicke einer Zellwand im Quer-, Längsschnitt und in Flächenansicht. Nicht selten bleibt auch ein ganzes Bündel ungefärbt, was sicher nur einer zufälligen Blockierung der Eintrittstelle am Kurztrieb durch Harzverschmierung zuzuschreiben ist.

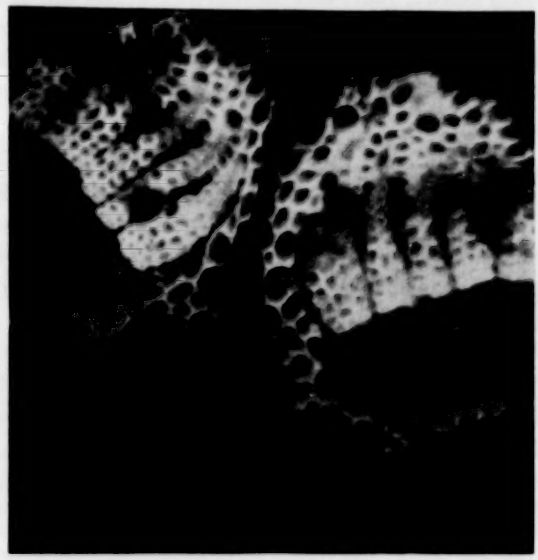


Abb. 21. Fluoreszenzfärbung des Transpirationsstromes mit Berberinsulfat 1:100: Xylem, Sklerenchymschirm, Transfusionstracheiden und Endodermis (besonders deren Radialwände) leuchten, während Phloem und Markstrahlen dunkel bleiben.

In der nächsten Phase wird auch der Sklerenchymschirm vom Leuchten erfaßt und man beobachtet von hier aus eine weitere Farbausstrahlung gegen die Endodermis. Sollte dieser Schirm nur eine Isolierung für den Assimilatstrom bilden und den Transpirationsstrom leiten? Auch in der Mediane sieht man Leuchtströme nach oben und unten zur Endodermis ziehen. Weitaus am auffälligsten leitet aber doch im Einklang mit den anatomischen Befunden der Tracheidensaum nach den Flanken.

Noch näher der Basis fällt neben der Verdichtung des leuchtenden Saumes das intensive Aufstrahlen der Endodermisradialwände auf: langsam beginnen sich auch die Palisadenwände zu färben, später auch die Hypodermis.

3. Assimilatstrom.

Anfangs ist nur um die Schnittwunde eine starke Farbstoffanreicherung zu bemerken. Verfolgt man die Erscheinung weiter, so sieht man

verhältnismäßig bald die Endodermis gleichmäßig aufleuchten (im Gegensatz zum Berberinsulfat färbt das Fluoreszein bekanntlich nicht die Wände, sondern das Cytoplasma). Von der Endodermis wandert das Leuchten weiter in die Transfusionsparenchymzellen, in denen die Stärkekörner besonders deutlich aufstrahlen (was auch SCHUMACHER hervorhebt). Während der Sklerenchymschirm bis auf zarte innerste Schichten dunkel bleibt, führt der Leuchtweg durch die Durchlaßzellen zum Phloem weiter. Vor allem aber sind die *Strasburgerzellen Orte gesteigerter Farbkonzentration*. Die Nadeloberseite blieb, wenn der Farbstoff von unten verabreicht wurde, bis auf die Endodermis völlig dunkel.

4. Ergebnisse.

Aus den Farbstoffversuchen ziehe ich nachstehende Folgerungen: In Bestätigung älterer Anschauungen (STRASBURGER, MÜNCH) erweist sich der tracheidale Saum im Zentralzylinder der Kiefernnadel als der bevorzugte Ort des Wasseraustritts vom Xylem zur Endodermis. Außerhalb des Saumes ließen sich aber weitere Austrittsstellen nachweisen. Insbesondere sind die Bündelscheiden nur ein bedingter Abschluß gegenüber dem benachbarten Transfusionsgewebe: Die im anatomischen Teil beschriebenen Durchlaßzellen erwiesen nämlich im Farbstoffversuch ihre vermutete Funktion.

Analog der Rolle des Tracheidensaumes beim Transpirationsstrom erweisen sich beim Assimilatstrom die parenchymatischen Anteile der Flanken einschließlich der Strasburgerzellen als die bevorzugten Orte der Fluoreszeinwanderung, also gerade jene Gewebe, die im Transpirationsversuch dunkel geblieben waren. Als Nebenweg sind aber auch für den Assimilatstrom die Durchlaßzellen gangbar.

Zusammenfassung.

Nachdem die Ergebnisse der Teile B und C bereits am Schluß der betreffenden Abschnitte zusammengefaßt sind, begnüge ich mich abschließend mit einer ganz kurzen Inhaltsangabe:

Teil A. Die anatomische Nachuntersuchung der fertigen Kiefernnadel ergab reichliche Tüpfelverbindungen bereits zwischen den Palisaden und von diesen zur Endodermis, Durchlaßzellen im Sklerenchymschirm und die Gültigkeit der „HUBERschen Verteilungsregel" zwischen Transfusionsparenchym und -tracheiden auch im Längsverlauf der Flanken.

Teil B. Die Entwicklungsgeschichte der Nadel zeigt ein zentripetales Fortschreiten perikliner Teilungen von der Oberfläche über Palisaden und Endodermis bis in das Transfusionsgewebe. Dieses entsteht zum Teil noch durch perikline Abspaltungen aus der Endodermis, zum

Teil aber auch unmittelbar aus dem Urmesophyll, welches auch die Leitbündel liefert. Diese doppelte Herkunft hat aber mindestens heute nichts mit der späteren Differenzierung des Transfusionsgewebes in Parenchym und Tracheiden zu tun; beide gehen vielmehr aus gemeinsamen Mutterzellen hervor und werden erst spät unterscheidbar.

Teil C. Die Saftströme in der Nadel lassen sich fluoreszenzoptisch genau verfolgen. Dabei zeigt sich, daß das Auf- und Abladen der Leitbündel nicht nur an den Flanken, sondern — wenn auch schwächer — auch durch die Durchlaßzellen der Sklerenchymscheide erfolgt.

Literatur[1].

ABLEMA, T. v.: Das Transfusionsgewebe in den Blättern der Cycadeen, Gingkoinae und Coniferae. Rec. Trav. bot. néerl. **31**, 309 (1934). — ESAU, K.: Origin and development of primary vascular tissues in seed-plants. Bot. Review **9**, 125 (1943). — HUBER, B.: Zur Mikrotopographie der Saftströme im Transfusionsgewebe der Kiefernnadel. 1. Mitteilung, Anatomischer Teil. Planta (Berl.) **35**, 331 (1947). — KORODY, E.: Studium am Sproß-Vegetationspunkt von Abies concolor, Picea excelsa und Pinus montana. Beitr. Biol. Pflanz. **25**, 23 (1938). — PILGER, R.: Gymnospermae. In ENGLER-PRANTL, Natürliche Pflanzenfamilien, 2. Aufl., Bd. 13. 1926. — REINHARDT, M. O.: Die Membranfalten in den Pinus-Nadeln. Bot. Ztg **63/I**, 29 (1905). — RENNER, O.: Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. Flora (Jena) **130**, 218 (1936). — Zur Entwicklungsgeschichte randpanaschierter und reingrüner Blätter von Sambucus, Veronica, Pelargonium, Spiraea, Chlorophytum. Flora (Jena) **130**, 454 (1936). — SCHUMACHER, W.: Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeins in den Siebröhren. Jb. Bot. **77**, 685 (1933). — STRUGGER, S.: Die lumineszenzmikroskopische Analyse des Transpirationsstromes in Parenchymen. Biol. Zbl. **59**, 409 (1939). — Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora (Jena) **132**, 253 (1938). — THIELKE, CH.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und zur Physiologie panaschierter Blätter. Planta (Berlin) **36**, 2 (1948). — ZIEGENSPECK, H.: Die Nadeln der erwachsenen und keimenden Koniferen und die Phylogenie dieser Klasse, eine phylogenetisch-anatomische Studie. Bot. Archiv **26**, 257 (1929).

[1] Da HUBER 1947 die einschlägige Literatur zusammengestellt hat, führe ich nur die dort nicht verzeichneten Arbeiten an.

Planta, Bd. 40, S. 112—120 (1951).

Aus dem Forstbotanischen Institut München.

ÜBER DIE WIRKUNG KLEINSTER SAUGKRÄFTE AUF DIE SAMENKEIMUNG.

Von

BRUNO HUBER und GERTRAUD MERKENSCHLAGER.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Mai 1951.)

1. Fragestellung.

In der amtlichen Samenprüfung (EGGEBRECHT, ROHMEDER) wird unter anderem das Keimgerät von JACOBSEN verwendet, bei welchem die Samen auf Filtrierpapierscheiben ausgelegt und durch 2 Streifen Filtrierpapier aus einem darunterstehenden (im allgemeinen konstant temperierten) Wasserbehälter mit Wasser versorgt werden. Die Prüfung unterscheidet dabei eine „hohe" und „tiefe Einstellung" je nachdem, ob die Samen 7 oder 12 cm über der Wasserfläche ausgelegt werden. Die Praxis versichert, daß manche Sämereien bei der einen, andere bei der anderen Einstellung bessere Keimung zeigten.

Als der erste Verfasser als damaliger Leiter der amtlichen forstlichen Samenprüfstelle für Sachsen in Tharandt 1938/39 vom Reichsforstamt gemeinsam mit den Leitern der Waldsamenprüfanstalten Eberswalde und München, den Professoren W. SCHMIDT und E. ROHMEDER, mit der Neufassung der Prüfungsbestimmungen für Forstsaatgut betraut wurde, hielt er die geschilderte Anordnung für einen Aberglauben, denn es war kaum anzunehmen, daß ein Unterschied in der Hubhöhe von nur 5 cm $= {}^1/_{200}$ Atmosphäre auf die Samenkeimung Einfluß haben könnte. Vom Standpunkt einer definierten Wasserversorgung zu beanstanden war auch, daß im JACOBSEN-Gerät die Dochtleitung frei geführt wird, wobei der Wasserversorgung je nach dem Sättigungsdefizit des Versuchsraumes unterschiedliche und unkontrollierbare Beträge durch seitliche Verdunstung verloren gehen: *Eine definierte Wasserversorgung durch unterschiedliche Hubhöhen erfordert zum mindesten, daß der Nachschubweg* — etwa durch Glasrohr oder Gummischläuche — *gegen seitliche Verdunstung geschützt ist.*

Zur Aufklärung dieser Widersprüche zwischen Theorie und Praxis ermunterte der erste Verfasser zunächst den Dresdener Studienreferendar HERBERT SAUER und, als dieser im Kriege fiel, die zweite Verfasserin. Die Befunde, welche überraschenderweise der Praxis recht gaben und in der Folge auch theoretisch aufgeklärt werden konnten, sind in einer von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München

angenommenen Dissertation (MERKENSCHLAGER 1950) niedergelegt. Die wichtigsten Ergebnisse sollen hier kurz mitgeteilt werden; weitere Einzelheiten bitten wir Interessenten, der genannten Dissertation zu entnehmen.

2. Methodik.

Die Methodik war denkbar einfach: Als Keimbett diente zur Erreichung größerer Hubhöhen Bildhauerton, der, gut durchfeuchtet, in Glastrichter von 7,5 cm Durchmesser gepreßt wurde. Zur Variation der Hubhöhen wurden an die 5,5 cm langen Trichter Glasröhren bis zu

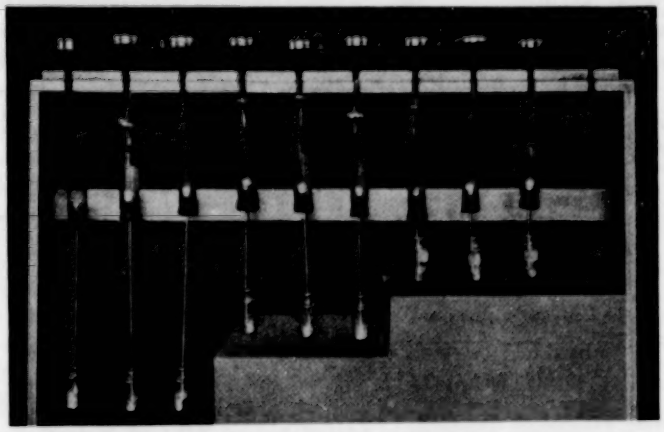


Abb. 1. Niveauhalter für Quecksilber entsprechend 300, 450 und 550 cm Wasserhub.

160 cm Länge (lichte Weite 0,5 cm) angeschlossen, welche in den Wasserbehälter tauchten. Zur Füllung diente, um Luftblasenbildung zu erschweren, ausgekochtes Wasser. Der Versuch mit jeder Saughöhe wurde mindestens doppelt angesetzt und die Plätze der verschiedenen Röhren wiederholt vertauscht.

Zur Prüfung größerer Saugkräfte wurden die Röhren mit Quecksilber gefüllt. Um diesem auch bei Entzug des darüberstehenden Wassers einen möglichst gleichbleibenden Stand zu sichern, wurde in der jeweils gewünschten Höhe zwischen Glasröhren ein *„Niveauhalter" (Tensiostat)* von 3 cm Durchmesser eingeschaltet (Abb. 1); dieser verlangsamte die Steiggeschwindigkeit des Quecksilbers so, daß sich das Niveau während der Dauer eines Keimversuches nur um durchschnittlich $^1/_2$ cm hob. Die gewünschte Höhe wurde durch Saugen mit der Wasserstrahlpumpe eingestellt; die diesem Zwecke dienende zweite Bohrung am oberen Ende des Niveauhalters liegt in Abb. 1 leider überall vor der eigentlichen Steigröhre, so daß nur ihre Schlauchklemmen erkennbar sind. Mit dem verwendeten Bildhauerton ließen sich Steighöhen bis zu 30—40 cm,

also rund einer halben Atmosphäre erreichen; bei höheren trocknete der Ton aus und trat schließlich Luft in die Röhren (über ähnliche Erfahrungen berichtet FLEISCHHAUER-BINZ).

Saugkräfte über Atmosphärengröße blieben im Rahmen unserer Fragestellung außer Betracht; ihr Einfluß auf die Samenkeimung ist von anderen Autoren ausreichend untersucht (WALTER, BUCHINGER, MÄGDEFRAU, SCHRATZ).

Für die Hubhöhle Null wurden die Samen in Petrischalen auf 2 cm starken Scheiben des gleichen Bildhauertones (Durchmesser wiederum 7,5 cm) ausgelegt und die Schalen bis zum oberen Rande der Tonscheibe mit Wasser gefüllt.

Nachdem sich ein beträchtlicher Einfluß bereits kleinster Saughöhen auf die Keimung herausgestellt hatte, wurde die Erscheinung auch in den

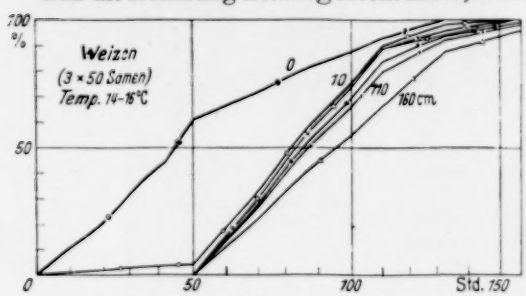


Abb. 2.

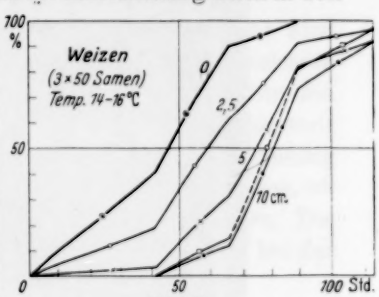


Abb. 3.

Abb. 2. Keimverlauf bei 0—160 cm Saughöhe (Mittel aus 3 Versuchen mit je 50 Samen). Abszisse: Keimdauer in Stunden; Ordinate: Prozent der gekeimten Samen. Die verschiedenen Kurven gelten, von links nach rechts fortschreitend, für 0, 10 (Ringe), 30 und 45 (bis auf den Endteil zusammenfallend), 60 (Punkte), 110 und 160 cm Saughöhe.

Abb. 3. Keimverlauf bei 0—10 cm Saughöhe (Mittel aus 3 Versuchen mit je 50 Samen). Darstellung wie in Abb. 2.

Bereich positiver Drucke verfolgt (vgl. dazu auch OPPAWSKY): Zu diesem Zwecke wurden die Samen in einem verschlossenen Gefäß durch ein angesetztes Steigrohr 6 Std lang dem Überdruck von 19 bzw. 38 cm Quecksilber ($^1/_4$ bzw. $^1/_2$ atü) ausgesetzt.

In sämtlichen Versuchen wurden die auf einer Filtrierpapierscheibe ausgelegten Samen durch den Deckel einer Petrischale vor Verdunstung geschützt, der an sich nicht hermetisch schließende Deckel aber im Dienste der Sauerstoffversorgung täglich einmal gelüftet. Alle Versuche standen im natürlichen Licht in einem nordseitigen Raum (ein Raum konstanter Temperatur stand damals noch nicht zur Verfügung). Die meisten Versuche wurden mit Weizen, Sorte „Wahrberger Ruf" der letzten Ernte durchgeführt. Als Kriterium der Keimung diente, wie üblich, der Austritt der Radicula.

3. Versuche mit Weizen.

a) Unterdruckversuche.

Alle Versuche ergaben eine deutliche Verzögerung der Keimung bei größeren Saughöhen (Abb. 2 und 3). Bei der graphischen Darstellung ist die Keimdauer in Stunden auf der Abszisse, der Hundertsatz gekeimter

Samen auf der Ordinate aufgetragen; die Ablesetermine sind an den Knickstellen der Kurven kenntlich.

Die Verspätung der Auskeimung bei größeren Saughöhen springt in die Augen: In Abb. 2 haben nach 50 Std bei Saughöhe 0 bereits über 50%, bei Saughöhe 10 cm erst 4%, bei den höheren überhaupt noch keine Samen gekeimt, nach 110 Std staffeln sich die Keimprozente genau nach den Saughöhen. Infolge des großen Sprunges zwischen 0 und 10 cm Saughöhe wird dieses Intervall in Abb. 3 noch einmal unterteilt, wobei sich *bereits ein Hubhöhenunterschied von 2,5 cm* $= {}^1/_{400}$ *Atmosphäre in der Keimschnelligkeit deutlich bemerkbar* macht. Schließlich wird aber bei allen Saughöhen bis 160 cm volle Keimung erreicht; *die Unterschiede beziehen sich also nur auf die Keimschnelligkeit, nicht das endgültige Keimprozent.* Zur kurzen Kennzeichnung dieser Keimschnelligkeit verwenden wir weiterhin die „*mittlere Keimdauer*", die Zeit (in Stunden), in welcher die Hälfte der Samen keimt. Sie wird als Mittel von 9 Versuchen in Abb. 4 dargestellt.

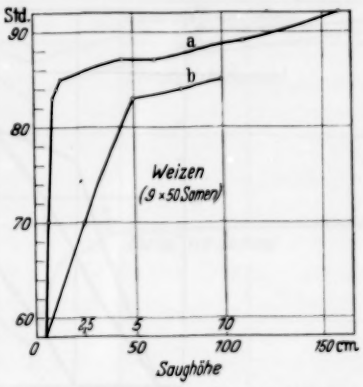


Abb. 4. Mittlere Keimdauer in Stunden (Ordinate) bei 0—160 cm Saughöhe (Abszisse). Mittel aus 9 Versuchen mit je 50 Samen; in Kurve b ist der Anfangsteil der Kurve a mit zehnfach größerem Abszissenmaßstab wiedergegeben (obere Skala). Der Nullpunkt der Abszisse liegt beim Zusammenlauf der Kurven a und b; die Ordinate ist links abgerückt.

Um den Verdacht zu prüfen, daß dieser erstaunliche Effekt vielleicht doch dadurch vorgetäuscht sein könnte, daß sich zum statischen Widerstand der reinen Hubhöhe beim dichten Bildhauerton noch ein nennenswerter Nachleitwiderstand addiert, wurden die Versuche mit 0—10cm Saughöhe in noch engerer Anlehnung an das JACOBSEN-Gerät mehrfach mit Filtrierpapier wiederholt, wobei die Wasserfüllung von oben absteigend vorgenommen wurde. Das Ergebnis blieb trotzdem grundsätzlich stets gleich: Gegenüber unmittelbarer Wasserzufuhr verzögern 5 und 10 cm Hubhöhe die Keimung bedeutend, und zwar ist die Verzögerung von 0—5 cm stets beträchtlich größer als weiterhin von 5—10 cm.

Die Versuche mit Quecksilber (entsprechend 300—600 cm Wasserhöhe) bringen dann nur noch eine verhältnismäßig geringfügige weitere Verlangsamung der Keimschnelligkeit. Erst im Bereich osmotisch gehemmter Keimung (Saugkräfte über einer Atmosphäre) steigt die mittlere Keimdauer rasch weiter an (unendlich bei fehlender Keimung): In MÄGDEFRAUs Versuchen erreicht z. B. Weizen über 0,5 molarer Kochsalzlösung erst nach 10 Tagen 50% Keimung. Die Kurve der

Hydratur-Abhängigkeit der Keimdauer verläuft demnach S-förmig, im Bereich kleiner Saugkräfte logarithmisch verlangsamt, später exponential beschleunigt.

b) Überdruckversuche.

Daß die Keimungsförderung auch im Bereich positiver Drucke wenigstens ein Stück weit anhält, lehren unsere Versuche mit $^1/_4$ und $^1/_2$ Atmosphäre Überdruck (Abb. 5; über die Methode s. oben): Die mittlere Keimdauer läßt sich von einem Wert von 50 Std bei Saughöhe 0

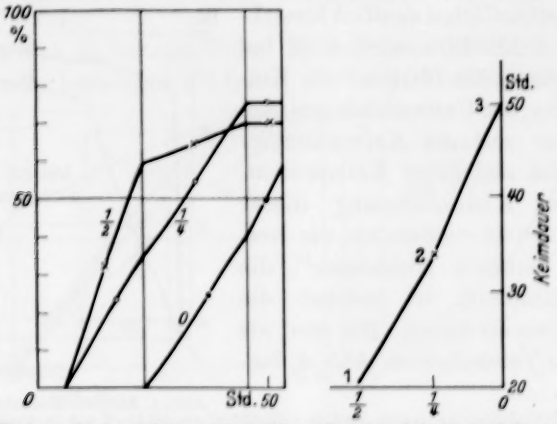


Abb. 5. Links Keimverlauf, rechts mittlere Keimdauer bei 0, $^1/_4$ und $^1/_2$ atü. Darstellung wie Abb. 2—4.

auf nur 20 Std beim Überdruck einer halben Atmosphäre herabdrücken. Einen Teil dieser Keimförderung erhält man allerdings bereits durch bloßes Untertauchen der Samen. Als Zeichen einer gewissen Schädigung erreicht der Druckversuch mit $^1/_2$ atü trotz schnellerer Anfangsgeschwindigkeit keine volle Keimung, ein Befund, der sich bei Wiederholung bestätigte. Auch Oppawsky berichtet bei Überdrucken von einer Atmosphäre von einer Keimhemmung.

4. Vergleichsversuche mit anderen Sämereien.

Versuche mit einer ganzen Reihe von Sämereien zeigten das vom Weizen geschilderte Verhalten: Ihre Keimschnelligkeit sinkt mit der Saughöhe stetig. Da sie bei der Saughöhe 0 am besten keimen (das Verhalten im Bereich positiver Drucke wurde hier nicht geprüft), möchten wir sie *Naßkeimer* heißen. Zu ihnen gehören die geprüften Forstsämereien (Kiefer, Fichte, Lärche; Abb. 6), Porre (*Allium porrum*), Sonnenblume und Zuckerrübe, vor allem aber die Kresse (*Lepidium sativum*), die mit ihrer schnellen Keimung das schönste Testobjekt liefert: Nach 24 Std ist die Kresse bei 0 und 2,5 cm Saughöhe fast voll ausgekeimt, während

in Saughöhe 5 cm die Keimung eben erst einsetzt, bei größeren Höhen noch überhaupt nicht begonnen hat.

Unsere besondere Aufmerksamkeit aber erweckten jene Sämereien, die bei wiederholter Prüfung das Optimum ihrer Keimschnelligkeit eindeutig nicht bei Saughöhe 0, sondern erst bei einer gewissen, meist freilich sehr geringen Saugkraft zeigten wie Petersilie, Tomate und Gurke (Abb. 7). In vielen Fällen ist an dieser Verschiebung des

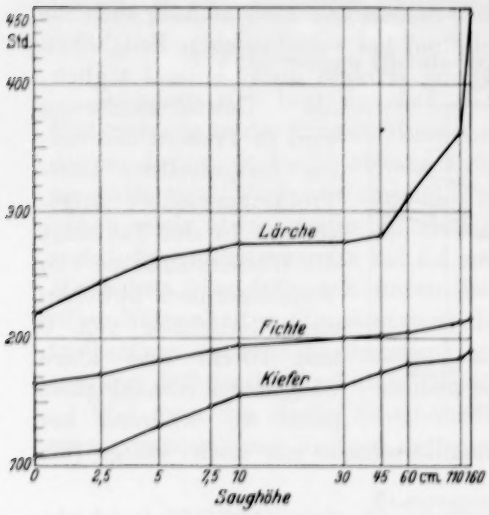


Abb. 6.

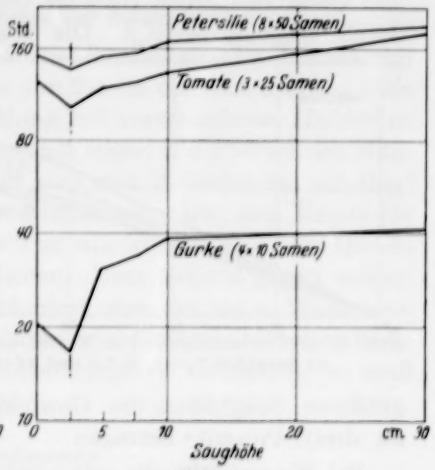


Abb. 7.

Abb. 6. Mittlere Keimdauer aus je 4 Versuchen mit Kiefer, Fichte und Lärche. Abszissenteilung (Saughöhen) logarithmisch, sonst Darstellung wie Abb. 4.

Abb. 7. Mittlere Keimdauer von Gurke, Tomate und Petersilie (logarithmische Koordinaten) bei verschiedenen Saughöhen: Keimungsoptimum bei 2,5 cm Saughöhe.

Keimungsoptimums allerdings Verpilzung schuld, welche bei guter Wasserversorgung leichter überhand nimmt und geschwächtes Saatgut schädigt; unter solchen Umständen konnte sich bei Gurke das Keimungsoptimum sogar bis zu Saughöhen über 100 cm verschieben. Aber auch bei sehr schneller Keimung im Thermostaten (Temperatur täglich zwischen 15 und 35° wechselnd) lag das Keimungsoptimum der Gurke ohne Anzeichen einer Verpilzung nicht bei 0, sondern 2,5 cm Saughöhe. Wir möchten daher glauben, daß es Samen gibt, welche gegen völlige Benetzung empfindlich sind (*Feuchtkeimer*). Wahrscheinlich handelt es sich dabei einfach um Atmungshemmung: Nach MÜNCH wachsen ja auch Holzpilze am besten nach einer leichten Austrocknung des Holzes, welche Wasser- und Luftversorgung in gleicher Weise gewährleistet; Ähnliches gilt von den Wurzeln der meisten höheren Pflanzen mit Ausnahme der eigentlichen Moorpflanzen.

5. Ursachen der Saughöhen-Abhängigkeit.

Bei der Frage nach den Ursachen dieser erstaunlichen Hydratur-Abhängigkeit der Samenkeimung lag die Vermutung nahe, daß diese in erster Linie den die Keimung einleitenden *Quellungsvorgang* betreffen dürfte (vgl. dazu PRINGSHEIM sowie LEHMANN und AICHELE), da auf die eigentliche Wachstumsphase und osmotische Vorgänge erfahrungsgemäß erst viel größere Saugkraftdifferenzen Einfluß gewinnen.

Es wurde daher die Quellung der Samen und modellmäßig auch die von Gelatinescheiben (10%ige Gelatine) bei verschiedenen Saughöhen durch Wägung verfolgt. Die Wägung erfolgte meist einmal täglich; die Gewichtsänderung wird in Prozent des vorher festgestellten Luft-Trockengewichtes angegeben. In der Tat zeigt die Wasseraufnahme von Weizenkörnern zwischen einer Saughöhe von 0 und 10 cm eine klare Saughöhen-Abhängigkeit (Abb. 8), während bei größeren Saughöhen die Gewichtsunterschiede nur noch wenige (bis zu drei) Prozent betragen.

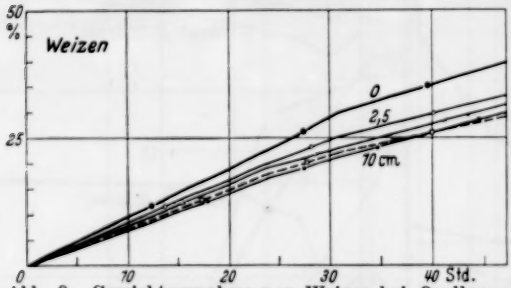


Abb. 8. Gewichtszunahme von Weizen bei Quellung in Saughöhe 0, 2,5, 5, 7,5 und 10 cm.

Bei Kresse fällt die unterschiedliche Quellung der Schleimschicht bereits dem freien Auge auf. Nach mikroskopischen Messungen von je 20 Samen war in einem Falle nach 24 Std die Schleimschicht bei der Saughöhe 0 durchschnittlich 0,59 mm, bei der Saughöhe 10 cm nur 0,42 mm dick. Bei den langsamer keimenden Forstsämerien treten vom dritten Tage ab *Gewichtsverluste durch Atmung* auf, welche das Bild der Quellung stören. Die stärkste Saughöhen-Abhängigkeit zeigten die Gelatinescheibchen (Tabelle 1).

Die Scheibchen zeigen überhaupt nur bis zu 7,5 cm Saughöhe eine Gewichtszunahme, während bei größeren Saughöhen eine Austrocknung stattfindet.

Tabelle 1. *Gewichtsänderungen von Gelatinescheibchen in Prozent des etwa 2 g betragenden Anfangsgewichtes bei verschiedenen Saughöhen (cm Wasser).*

Std	Saughöhe								
	0 cm	2,5 cm	5 cm	7,5 cm	10 cm	30 cm	60 cm	110 cm	600 cm
5	40	22,2	1,6	3,5	—1,4	—0,1	—0,7	—0,7	—4,8
10	50,1	24,1	2,2	3,3	—2,2	—1,4	—2,2	—4,4	—8,0
30	57,7	32,5	5,1	4,0	—5,2	—5,6	—7,3	—9,9	20,4

Eine dichtere Wägungsfolge mit Lärchensamen lehrte, daß sich die Gewichtsunterschiede bereits in den ersten 4 Std herausbilden. Infolgedessen genügt bei Kresse ein einstündiges, bei Weizen ein 6stündiges Einwässern der Samen, um bei der anschließenden Keimprüfung die Saughöhen-Abhängigkeit so gut wie ganz zu verwischen (mittlere Keimdauer bei Weizen 15 Std, bei Saughöhe 0, $21^1/_2$ Std bei Saughöhe 350 cm). *Damit ist bewiesen, daß der von uns beobachtete Saughöheneffekt ausschließlich auf der unterschiedlichen Quellung der ersten Stunden beruht.*

6. Folgerungen für die Praxis der Samenprüfung.

Nachdem sich bestätigt hat, daß die Samenkeimung bereits auf Unterschiede in der Wasser-Hubhöhe von 2,5 cm deutlich anspricht, ist die im JACOBSEN-Gerät übliche Prüfung bei verschiedenen Hubhöhen gerechtfertigt. Vielleicht empfiehlt es sich sogar, die Spanne der Hubhöhen noch etwas weiter zu staffeln und mit 3 Stufen zu arbeiten; wobei die unterste bereits bei 2,5 cm anzusetzen wäre; zum Ersatz für Hubhöhen über 100 cm könnten die von uns vorgeschlagenen Quecksilber-Niveauhalter (Tensiostaten) dienen. Zum Schutz gegen unkontrollierbare seitliche Verdunstung erfordert eine genormte Wasserversorgung, daß der Nachschub in Glasröhren oder Gummischläuchen läuft.

Will man die starke Saughöhen-Abhängigkeit vermeiden, so muß man vorgequollenes Saatgut auflegen.

Zusammenfassung.

1. Die Keimungsgeschwindigkeit zahlreicher Sämereien ist so stark von der Saughöhe abhängig, daß bereits Hubhöhenunterschiede von 2,5 cm Wasser $= {}^1/_{400}$ Atmosphäre zu einer deutlichen Verzögerung der Keimung führen. Die Keimungsförderung setzt sich auch in den Bereich positiver Drucke fort.

2. Wie Wägungen beweisen, beruht diese unerwartet starke Hydratur-Abhängigkeit auf einer stark unterschiedlichen und für den weiteren Keimverlauf wichtigen Quellung in den ersten Stunden. Wird diese Anfangsquellung durch Einwässern gewährleistet, so ist die Hubhöhe für den weiteren Keimverlauf nur noch von untergeordneter Bedeutung.

3. In manchen Fällen liegt das Keimungsoptimum (wohl infolge Atmungshemmung) nicht bei unmittelbarer Benetzung, sondern erst bei einer gewissen Hubhöhe. Durch sekundäre Umstände wie Verpilzung kann das Keimungsoptimum noch weiter in den Bereich höherer Saugkräfte rücken, was auch in der Natur bedeutsam werden kann.

Literatur.

BUCHINGER, A.: Ein neuer Keimapparat. Fortschr. Landw. 2 192 (1927). — EGGEBRECHT, H.: Untersuchung von Saatgut. Neubearbeitung der Technischen

Vorschriften für die Prüfung von Saatgut. Neudamm 1941. — Fleischhauer-Binz, E.: Die Messung von Bodensaugkräften mit Tensiometern. Planta (Berl.) **37**, 565 (1949). — Gradmann, H.: Untersuchungen über die Wasserverhältnisse des Bodens als Grundlage des Pflanzenwachstums. I. u. II. Jb. Bot. **69**, 1 (1928); **71**, 669 (1929). — Lehmann, E., u. F. Aichele: Keimungsphysiologie der Gräser (Gramineen). Eine Lebensgeschichte der reifenden, ruhenden und keimenden Grassamen. Stuttgart: Ferdinand Enke 1931. — Mägdefrau, K.: Untersuchungen über die Wasserdampfaufnahme der Pflanzen. Z. Bot. **24**, 417 (1930/31). — Merkenschlager, G.: Untersuchungen über den Einfluß der Wasserversorgung auf die Keimung von Samen mit besonderer Berücksichtigung kleinster Saugkräfte (unter 1 Atmosphäre). Diss. München 1950. — Münch, E.: Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. Naturwiss. Z. Land- u. Forstw. **7**, 54 (1909). — Oppawsky, G.: Über Quellung und Keimung von Samen in verschiedenen Medien. Diss. Kiel 1913. — Pringsheim, E. G.: Untersuchungen über Samenquellung. Planta (Berl.) **11**, 528 (1930); **15**, 419 (1931). — Rohmeder, E.: Neuzeitliche Geräte und Arbeitsverfahren bei der Prüfung des Forstsaatgutes. Forstwiss. Zbl. **60**, 218 (1938). — Beiträge zur Keimungsphysiologie der Forstpflanzen. München 1951. — Schratz, E.: Die Keimprüfung in Zuckerlösung (Saugkraftbestimmung) und ihre Bedeutung für die Sortenkunde. Züchter **7**, 161 (1932). — Walter, H.: Plasmaquellung und Wachstum. Z. Bot. **16**, 353 (1924). — Die Hydratur der Pflanze und ihre physiologisch-ökologische Bedeutung. Jena 1931.

Prof. Dr. Bruno Huber, München, Forstbotanisches Institut, Amalienstr. 52.
Dr. Gertraud Merkenschlager, Traunstein (Obb.).

Planta, Bd. 40, S. 121—144 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen.

UNTERSUCHUNGEN AN EINIGEN ACANTHACEEN UND URTICACEEN ZUR FUNKTION DER CYSTOLITHEN.

Von

FRANZ HUBERTUS RABIGER.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Juli 1951.)

A. Einleitung.

$CaCO_3$ findet sich in manchen Geweben höherer Pflanzen in kleinen, meist vereinzelten Kristallen frei im Zellinneren [*Telfaira* (LEUTHOLD 1934), Boragineen (MOLISCH 1921) u. a.] oder — häufiger — in die Membran eingelagert [Cruciferen (MOLISCH 1921)]. Bei einigen Pflanzen tritt es jedoch viel auffälliger und in weit größeren Anhäufungen in Gestalt der sog. „Cystolithen" (im folgenden mit CL bezeichnet) auf (Urticaceen, Moraceen, Acanthaceen, Cucurbitaceen, Cannabinaceen, Combretaceen). Die Wandung ihrer Behälterzelle, der „Lithocyste" setzt sich in einen kurzen Stiel fort, der seinerseits in einen keuligen, lamellenartig aus Zellulose, Pektin und Callose (WIELER 1940) aufgebauten, mit Kalk inkrustierten Körper, eben den CL, ausmündet. Dieser wieder ist mit einer feinen Hülle von unbekannter Natur überzogen.

Die Funktion dieser CL hat man meist (Literatur z. B. bei FREISLEBEN 1933) in einer Ablagerung von überschüssig aufgenommenem Ca erblickt. FREY-WYSSLING (1935) stellt deshalb das $CaCO_3$ als „Rekret" physiologisch den weitverbreiteten Ausscheidungen von Ca-Oxalat zur Seite.

Aber mit dieser naheliegenden Deutung ist — wie auch WIELER (1940) feststellt — der Befund (FREISLEBEN 1933) schwer zu vereinigen, daß erhebliche Kalkmengen sich auch dann in den CL vorfinden, wenn den Pflanzen im Boden (z. B. Mischung aus gleichen Teilen Torf und kalkfreiem Sand) nur verschwindend wenig Ca geboten war.

Wie dem auch sei, so scheint sich uns die bisher ganz vernachlässigte Frage zu erheben, ob die physiologische Bedeutung der CL nicht ebenfalls oder nur in der Anhäufung von CO_2 durch Bindung an $CaCO_3$ zu sehen ist. Diese bisher, wie gesagt, nicht erhobene Frage haben wir uns gestellt; sie soll im folgenden geprüft werden.

B. Speicherung von CO_2 im Blatt.

I. Allgemeines.

Die Blätter vieler Pflanzen sind in der Lage, im Dunkeln durch lockere, leicht wieder lösbare Bindung CO_2 aufzunehmen. Diese Erschei-

nung, erstmalig von WILLSTÄTTER und STOLL (1918) untersucht, steht in keinem Zusammenhang mit den Lebensprozessen des Blattes und ist auch nicht an Chlorophyll gebunden. Die Fähigkeit, CO_2 zu absorbieren, ist nach den bisherigen Untersuchungen besonders bei *Helianthus annuus* und *Urtica dioica* ausgeprägt. Blattmaterial dieser beiden Pflanzen nimmt im Dunkeln etwa 20mal mehr CO_2 auf als solches von *Spinacia*, *Hydrangea*, *Poa* u. a., bei denen die Absorption fast ganz dem Wassergehalt der Blätter zuzuschreiben ist (SPOEHR and NEWTON 1925). Nach SMITH (1940) beträgt bei *Helianthus*-Blättern, die sich im Gleichgewicht mit reiner CO_2-Atmosphäre befinden, die Gesamtmenge an chemisch gebundenem CO_2 17—19 ml/10 g Frischgewicht. Diese entspricht einer durchschnittlichen Konzentration von 0,1 Mol/l oder 2% des Trockengewichts. Der Chemismus der reserviblen Absorption wurde durch SMITH (1940) an *Helianthus* geklärt. An der reserviblen CO_2-Bindung beteiligen sich 3 Komponenten:

1. Das Zellwasser. Es absorbiert proportional seiner Menge und dem CO_2-Partialdruck. Die Löslichkeit des CO_2 erfährt dabei durch gelöste Salze eine 5—10%ige Erniedrigung gegenüber der in reinem Wasser (RABINOWITCH 1945).

2. Puffersubstanzen des Zellsafts, insbesondere Phosphate, nach der Formelgleichung:

$$CO_2 + H_2O + HPO_4^{-2} \rightleftharpoons HCO_3^- + H_2PO_4^-,$$

zu etwa 32%,

3. Erdalkalikarbonate, hauptsächlich $CaCO_3$, nach der Formelgleichung:

$$CaCO_3 + CO_2 + H_2O \rightleftharpoons Ca(HCO_3)_2,$$

zu etwa 65% der chemischen Absorption.

SMITH and COWIE (1941) bestätigten diese Ergebnisse durch Untersuchungen mit radioaktivem Kohlenstoff.

II. Blätter mit Cystolithen.

1. Ergebnisse früherer Untersuchungen.

Auf die Möglichkeit einer solchen Speicherfunktion der CL weisen neben der Tatsache, daß auch die CL-Pflanze *Urtica dioica* besonders hohe CO_2-Absorptionswerte aufweist, auch folgende Befunde hin: CHAREYRE (1884) bemerkte bei grünen Blättern von *Urticales* (nicht jedoch von Acanthaceen) nach längerer Verdunkelung (6 Wochen und mehr) eine fast vollständige Lösung des $CaCO_3$, wobei das Zellulosegerüst unverändert erhalten blieb. Er schließt hieraus nur, daß diese Erscheinung mit dem Aufhören der Assimilationstätigkeit in Verbindung stehen müsse. FREISLEBEN (1933), der diese Beobachtung bestätigt, deutet sie

als nebensächliche Begleiterscheinung anderer, meist pathologischer Veränderungen. Uns erscheint demgegenüber am wahrscheinlichsten die Erklärung, daß das $CaCO_3$ bei ausgeschalteter Photosynthese durch Einwirkung von Atmungskohlensäure gelöst wird. Für diese Möglichkeit spricht ein sehr bedeutungsvolles Ergebnis: FREISLEBEN (1933) untersuchte die Wasserstoffionenkonzentration in der Epidermis älterer Blätter von *Boehmeria nivea* durch Vitalfärbung mit einer Reihe von Indikatorfarbstoffen und fand, daß die Lithocysten Zentren alkalischer Reaktion sind, die auch auf die benachbarten Epidermiszellen übergreift und mit zunehmender Entfernung von der Lithocyste abnimmt. Demgegenüber meint FREY-WYSSLING (1935), das $CaCO_3$ solle durch Einlagerung in Zellulosemembranen einer Auflöung entzogen werden.

2. Orientierende Versuche.

a) Der Austausch von CO_2 und HCO_3 zwischen Cystolithen und Blattgewebe.

Die Frage, ob sich das CL-Karbonat am CO_2-HCO_3^--Gleichgewichtssystem des Blattgewebes beteiligen kann, war also als erste zu klären. Hierzu dienten die folgenden Versuche.

Methodik: CO_2- und Ca-Gehalt wurden stets an frisch abgenommenem Blattmaterial bestimmt. Mit Blechschablonen wurden 3×10 bzw. 5×5 cm große Stücke ausgeschnitten, wobei darauf geachtet wurde, daß der Anteil an Blattrippen in den zu vergleichenden Stücken möglichst gleich war (bei *Sanchezia* und *Boehmeria argentea* stammten die Stücke aus den beiden Hälften desselben Blattes). Dies schien bei der geringeren Verteilungsdichte der CL über den Rippen ratsam. Als Bezugsgröße diente daher auch vorwiegend die Blattfläche.

Zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an löslich gebundenem Ca wurden die Blattstücke unter Zugabe einiger Tropfen verdünnter NaOH mit Quarzsand (p. a., Sieb Nr. 5) fein zerrieben, der Brei in CO_2-freiem destiliertem Wasser suspendiert und durch ein Zellulosefilter unter Druck filtriert. Der Rückstand wurde zur Bestimmung des unlöslich gebundenen (Karbonat-)Ca mit halbkonzentrierter HCl ausgewaschen. Nach Ausfällung der Eiweißstoffe mit Trichloressigsäure und Abfiltration derselben wurde das Ca aus den beiden Fraktionen durch Fällung als Oxalat und Titration mit n/10 $KMnO_4$-Lösung (nach Vorschrift bei WILLARD and FURMAN 1944) bestimmt.

Zur p_H-Messung dienten Filtrate von Gewebebrei-Suspensionen, die aus gleicher Blatt- und Wassermenge hergestellt wurden. Die Messung erfolgte elektrometrisch mit Hilfe eines Präzisions-Ionometers nach LAUTENSCHLÄGER.

Der Phosphatgehalt, ebenfalls aus dem wäßrigen Extrakt des Gewebebreies, wurde durch Säuregemischveraschung, Ausfällung mit Ammoniummolybdat und Titration nach NEUMANN-GREGERSEN bestimmt (vgl. LOCKEMANN 1921).

1. Blätter von *Ruellia spec.* und Blattstücke von *Boehmeria argentea* wurden in gesättigte wäßrige CO_2-Lösung gebracht. Nach einigen Stunden war das $CaCO_3$ aus den CL vollständig herausgelöst, was schon an der stark verminderten Lichtbrechung des leeren Skeletts kenntlich wird.

2. Blätter von *Sanchezia nobilis* und *Boehmeria nivea* kamen 1 Std lang in Luft mit 70—90 Vol.-% CO_2-Gehalt. Bestimmungen des p_H-Wertes und des Ca-Gehalts (geteilt in wasserlösliche und wasserunlösliche Fraktion) vor und nach dieser Behandlung ergaben z. B. folgende Werte[1] (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Ca-Gehalt und p_H-Werte vor und nach Speicherung in CO_2-Atmosphäre (mg Ca/30 cm² Blattfläche).*

Pflanze	p_H		Ca-Gehalt				Gesamt-Ca		% löslich	
			H_2O-löslich		H_2O-unlöslich					
	vor Speicherung	nach Speicherung	vor Speicherung	nach Speicherung	vor Speicherung	nach Speicherung	vor Speicherung	nach Speicherung	vor Speicherung	nach Speicherung
Sanchezia nobilis .	7,58	7,94	2,06	3,33	14,39	13,01	16,45	16,34	13,1	20,0
Boehmeria nivea .	8,37	8,68	2,80	4,27	8,91	8,66	11,71	12,93	23,9	33,0

Durch die CO_2-Behandlung steigt also die Alkalität des Preßsafts (vgl. auch FIFE and FRAMPTON 1935 und SMITH 1940). Während erstere eine Umwandlung von Säureamiden durch CO_2-Katalyse in Ammoniumsalze als Ursache für den Alkalitätsanstieg ansehen, führt SMITH (1940) ihn auf Auflösung von Erdalkalikarbonat unter Bildung von Bikarbonat zurück, da er gleichzeitig den Ca- und Mg-Gehalt des wäßrigen Blattextrakts erhöht fand. Unsere Ergebnisse (Tabelle 1) bestätigen dies für 2 CL-Pflanzen; wie man sieht, erhöht sich der Gehalt an löslich gebundenem Ca auf Kosten des unlöslich gebundenen. Der p_H-Wert des Preßsafts kann demnach innerhalb des alkalischen Bereichs als brauchbarer Indikator für die Konzentration an Bikarbonationen im Blattgewebe angesehen werden.

Kohlendioxyd, in wäßriger Lösung geboten, dringt also durch die CL-Hülle und löst den Kalk, wie schon optisch sofort erkennbar ist. Letzteres ist bei gasförmiger Darbietung nicht ohne weiteres möglich, doch läßt sich die Lösung des Kalks chemisch leicht nachweisen, wobei die in den Höckern der CL-Oberfläche (Protuberanzen) ausmündenden radialen Kanäle (WIELER 1940) durch Vergrößerung der Oberfläche eine Rolle spielen könnten.

3. Zur Frage des Stoffverkehrs zwischen den Lithocysten und dem umgebenden Blattgewebe schien noch ein Einblick in den plasmatischen Zustand der ersteren erwünscht, da wir hierüber keine näheren Angaben in der Literatur vorfanden.

Plasmafärbungs- und Plasmolyseversuche scheiterten an der Unübersichtlichkeit der großen, fast vollständig vom CL ausgefüllten Zelle.

[1] Diese Einzelbeispiele sind aus den Reihen von je 3 gleichartig verlaufenen Versuchen herausgegriffen.

Es wurde daher verschieden altes Material von *Boehmeria nivea* mit Chrom-Osmiumsäure fixiert und die Kerne mit FEULGENscher Nukleal-reagens und Eisenhämatoxylin gefärbt.

Die Untersuchung der Mikrotomschnitte bestätigte zunächst die Angaben AJELLOs (1941). Der Kern der Lithocyste ist etwas größer als der einer gewönlichen Epidermiszelle (typisch für Drüsenzellen) und sinkt bereits in sehr frühem Entwicklungsstadium auf den Boden der Zelle. Mit fortschreitender Vergrößerung der CL sind dann zunehmend Schrumpfungen und Deformationen des Kernes zu beobachten, bis nur noch kleine, stark gefärbte Reste oder gar keine Spuren solcher mehr zu erkennen sind.

Hieraus ergibt sich — analog zum Verhalten von Ölzellen (LEHMANN 1925), um deren Öltropfen sich auch, wie um die CL, eine Hülle bildet — daß nach vollständiger Ausbildung der CL im ausgewachsenen Blatt die Lithocyste abstirbt. Der an sich schon leichte Austausch von CO_2 bzw. HCO_3^- mit den benachbarten Zellen wird durch das Fehlen einer semipermeablen Plasmahülle noch eine zusätzliche Erleichterung erfahren.

b) Quantitative Verhältnisse.

Die CL sind in außerordentlich großer Anzahl und beträchtlicher Größe subepidermal im Blattgewebe zu finden, bei Acanthaceen in der Ober- und Unterseite, in letzterer allerdings etwas spärlicher, bei den Urticaceen nur in der Oberseite. Auszählungen über dieses Auftreten bei einigen Pflanzen ergaben folgende Werte (Tabelle 2):

Tabelle 2. *Anzahl CL/mm² Blattfläche und Dimensionen (mm).* (Durchschnittswerte aus je 4 Zählungen bzw. Messungen.)

Pflanze	Anzahl		Länge	Durchmesser
	Oberseite	Unterseite		
Sanchezia nobilis	12,0	4	0,4	0,03
Sanchezia parvibracteata . . .	11,3	3,7	0,47	0,045
Ruellia spec.	26,6	15	0,19	0,023
Boehmeria argentea	16,2	—	0,27	0,03
Boehmeria nivea	65	—	0,038	0,038

Schätzt man die Skelettsubstanz auf 10% der Gesamtmasse des CL so lassen sich hieraus beispielsweise folgende Verhältnisse errechnen (*Boehmeria argentea*, CL annähernd zylindrisch):

In einem 30 cm² großen Blattstück befinden sich 48600 CL mit einer Gesamtmenge von 20,1 mg $CaCO_3$ (spez. Gew. 2,71) mit 7,8 mg Ca und 8,8 mg CO_2 (später analytisch bestimmte Werte: 9,13 mg Ca und 8,51 mg CO_2). Zur vollständigen Auflösung dieser Karbonatmenge wären nochmals 8,8 mg CO_2 notwendig. Diese würden, bei gleichzeitiger Einwirkung,

der praktisch unerreichbaren (vgl. LANDOLT-BÖRNSTEIN 1923) Konzentration von 0,257 Mol/l (Wassergehalt aus Frisch- und Trockengewicht: 0,777 g) entsprechen. Die Konzentration an Bikarbonationen nach vollständiger Auflösung betrüge 0,515 Mol/l (24,4 mg HCO_3^-); [sie wäre etwa 28mal größer, als SMITH (1940) im Zellsaft des CL-freien *Helianthus* bei einem äußeren CO_2-Druck von 1 Atm. gefunden hat!]. Zwar erfolgt praktisch die Auflösung von $CaCO_3$ bei seinem kleinen Löslichkeitsprodukt von $1{,}7 \times 10^{-8}$ nur relativ langsam unter allmählichem Verbrauch von CO_2, aber auch dann wäre die benötigte Menge noch viel zu groß, um innerhalb kürzerer Zeit eine bis zu optischer Erkennbarkeit gehende Lösung herbeizuführen.

Wenn wir die Beobachtung CHAREYRES (1884) und FREISLEBENS (1933) (s. S. 122) durch ständige Einwirkung von Atmungs-CO_2 erklären, so ist das demnach nur unter der Voraussetzung möglich, daß das gelöste Bikarbonat mit der Zeit aus den Blättern entfernt werden kann. Andernfalls könnte nach Erreichung eines bestimmten CO_2-Spanungsgefälles gegenüber der Außenluft keine weitere Lösung mehr erfolgen. Daß eine Ableitung mit dem Assimilatstrom eintritt und der Kalk im Stengel wieder abgelagert wird (CHAREYRE 1884), erscheint nach FREISLEBENS (1933) Ergebnissen so gut wie ausgeschlossen. Dagegen ist eine Ausscheidung von $Ca(HCO_3)_2$ mit dem Guttationswasser oder durch kutikuläre Exkretion (ARENS 1934) wahrscheinlich. Nach LIPPMANN (1925) guttieren sowohl Acanthaceen als auch Urticaceen; erstere fast ausschließlich mit Hilfe kurzstieliger aktiver Drüsenhydathoden (saure bis neutrale Reaktion), letztere dagegen stets passiv durch Spalten mit Epithem [leicht alkalische Reaktion des Tau- und Guttationswassers (ARENS 1934)]. Es scheint hier mit dem Befund, daß bei Urticaceen nach längerer Verdunkelung eine merkliche Auflösung des CL-Karbonats eintritt, nicht aber bei Acanthaceen (vgl. S. 122) ein Zusammenhang zu bestehen; offenbar können nur Urticaceen mit Hilfe ihres Epithems oder durch die Kutikula $Ca(HCO_3)_2$ ausscheiden, Acanthaceen dagegen nicht.

c) Absorption von CO_2 durch Phosphat.

Nach SMITH (1940) haben auch lösliche Phosphate des Zellsafts Anteil an der CO_2-Absorption. Um diesen bei CL-Pflanzen kalkulieren zu können, wurde der Gehalt an löslichem Phosphat bei 2 Arten bestimmt. Die Ergebnisse, umgerechnet auf HPO_4^{-2}-Ionen, und deren theoretische Absorptionsgrößen zeigt Tabelle 3.

Man sieht, daß selbst unter der idealen Annahme, daß sämtliche löslichen Phosphorverbindungen als sekundäre Phosphationen vorliegen, deren CO_2-Absorption nur gering sein könnte, auch dann noch, wenn man den gesamten Phosphatgehalt des Blattes zugrundelegt. Die Phos-

Tabelle 3. *Phosphatgehalt des Zellsaftes (mg/30 cm² Blattfläche).*

Pflanze	P_2O_5	HPO_4^{-2}	Maximale CO_2-Absorption	PO_4^{-3} (Mol/l)
Boehmeria argentea	0,85	0,57	0,26	0,00855
Sanchezia parvibracteata . . .	1,204	0,81	0,37	0,00823
Sanchezia Gesamtgehalt . .	1,82	1,15	0,56	
Helianthus anuus (SMITH 1940)				0,0166

phatkonzentration im Zellsaft von *Helianthus* (SMITH 1940) ist etwa doppelt so hoch wie bei *Boehmeria* und *Sanchezia*.

Andererseits enthält aber *Sanchezia* (mit CL) etwa 37mal mehr wasserunlöslich gebundenes Ca als *Helianthus* (ohne CL) [0,0025 Grammatome (SMITH 1940) gegenüber $6{,}69 \times 10^{-4}$ Grammatomen/10 g Frischgewicht!] Für die anderen CL-Pflanzen ergeben sich ähnliche Verhältnisse.

Die bisherigen Untersuchungen haben gezeigt, daß die Möglichkeit zur Speicherung von CO_2 in CL-Blättern in einem hohen Maße besteht, das praktisch nur durch das CO_2-Spannungsgefälle gegenüber der Außenluft begrenzt wird. Die Bindung durch Phosphatpuffer tritt gegenüber der als $Ca(HCO_3)_2$ weitgehend zurück.

3. CO_2-Aufnahme aus der Atmosphäre.

Es war nun zu prüfen, inwieweit und unter welchen Verhältnissen diese Möglichkeit zur CO_2-Speicherung von der Pflanze verwirklicht wird.

Zunächst bedurfte die bereits festgestellte Fähigkeit zur CO_2-Aufnahme aus der Atmosphäre bei verschiedenen Partialdrucken einer quantitativen Untersuchung.

Da eine manometrische Bestimmung derselben aus einem Gasstrom (WILLSTÄTTER und STOLL 1918, SMITH 1940) bei den im hiesigen Institut gegebenen Möglichkeiten nicht durchführbar war, wurde folgendes Verfahren angewendet:

Aus einem aus der einen Hälfte eines Blattes von *Sanchezia parvibracteata* stammenden 3×10 cm großen Blattstück wurde sofort nach der Abnahme der CO_2-Gehalt bestimmt. Die andere Blatthälfte mit Mittelrippe und Stiel kam, in Wasser stehend, unter eine dicht schließende Glasglocke (vgl. Abschnitt C, 2.). In diese wurde dann aus einem Gasometer eine bestimmte Menge CO_2 so eingeblasen, daß das Gas am Boden der Glocke langsam einströmte, während die verdrängte Luft oben entwich. Nach 2stündiger Einwirkung im Dunkeln bei 22° C wurde die Blatthälfte noch eine weitere Stunde verdunkelt in gewönliche Atmosphäre gebracht, um die in den Interzellularen befindliche Kohlensäure entweichen zu lassen, und dann der CO_2-Gehalt des dem ersteren entsprechenden Blattstückes bestimmt.

Die CO_2-Bestimmungen wurden nach den Angaben DENNYS (1947) mit Hilfe der in Abb. 1 wiedergegebenen Apparatur folgendermaßen durchgeführt:

Der schwach alkalisierte Gewebebrei wurde in dem Fraktionierkolben (*1*) tropfenweise mit konzentriertem HCl aus dem Scheidetrichter (*2*) versetzt und

das freigesetzte CO_2 durch allmähliches Erhitzen bis zum Sieden ausgetrieben. Im kontinuierlichen Strom CO_2-freier Luft [GEISLERscher Kaliapparat (*3*)] wurde das Gas nach Passieren des Rückflußkühlrohres (*1a*) und eines Absorptionsrohres für HCl-Gas [gefüllt mit wasserfreiem Kupfersulfatbimsstein (*4*)] durch eine Pettenkofer-Röhre (*5*) gesaugt und darin an n/22 $Ba(OH)_2$ gebunden. Für Fernhalten des Luft-CO_2 bei Einfüllung und Entnahme des Barytwassers sorgten 2 vor und hinter die Röhre geschaltete Natronkalkrohre (*6* u. *7*). Handhabung und Bestimmung des CO_2-Gehaltes durch Titration erfolgte nach BOYSEN JENSEN (1934). Zum Saugen diente eine evakuierte Glasflasche von 5 Liter Inhalt.

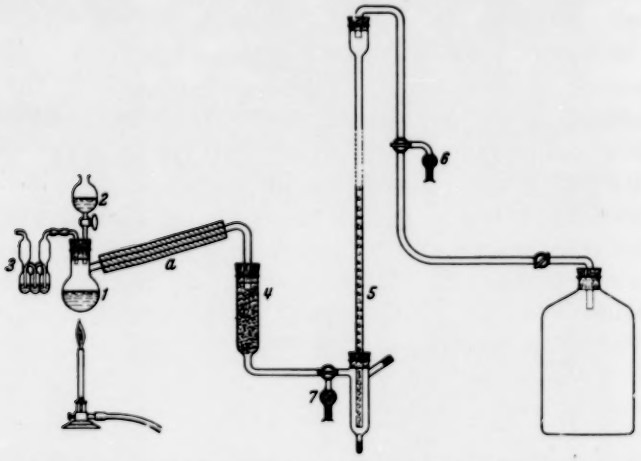


Abb. 1. Apparatur zur CO_2-Bestimmung im Gewebebrei. Zahlenerklärung s. Text.

Die Schwankungen des CO_2-Gehalts zweier normal gehaltener Blatthälftenstücke betrugen maximal $\mp$ 0,12 mg bzw. $\mp$ 0,53%.

Die Ergebnisse dieser Bestimmungen zeigt Tabelle 4.

Die daraus hervorgehende Zunahme des CO_2-Gehalts mit steigendem äußeren Partialdruck verdeutlicht Abb. 2. Die Werte sind um den der Atmung zuzuschreibenden Betrag korrigiert. Dieser, d. h. die CO_2-Produktion eines entsprechenden Blattstückes in 2 Std bei 22°, wurde später (s. unten) bestimmt (0,6 mg).

Tabelle 4. *Gesamt-CO_2-Gehalt aus Blattstücken vor und nach Speicherung in CO_2-haltiger Atmosphäre (mg CO_2/30 cm² Blattfläche).*

Pflanze	Temperatur Grad	% CO_2 in der Atmosphäre	CO_2-Gehalt vor Speicherung	CO_2-Gehalt nach Speicherung	% mehr als normal
Sanchezia parvibracteata .	22	1	6,87	7,62	10,9
Sanchezia parvibracteata .	22	2	7,05	8,15	15,6
Sanchezia parvibracteata .	22	5	7,48	9,56	27,8
Sanchezia parvibracteata .	22	10	6,77	10,06	46,2
Sanchezia parvibracteata .	22	20	7,02	10,46	48,7

Die Kurve hat, wenigstens im unteren Teil, etwa die gleiche Gestalt wie die von WILLSTÄTTER und STOLL (1918) für die CO_2-Aufnahme ausströmender Atmosphäre von Blattmaterial von *Helianthus* und *Urtica* angegebene. Die Umrechnung auf „etwa 20 g Frischgewicht" (WILLSTÄTTER und STOLL 1918) ergibt, daß die hier gefundenen Werte rund doppelt so hoch wie dort liegen. Dieser Unterschied mag zum Teil darauf beruhen, daß das artmäßig und individuell stark verschiedene Frischgewicht eine schlechte Vergleichsgröße darstellt. Daneben ist zu berücksichtigen, daß die hier gefundenen Werte in Anbetracht der weniger exakten Methodik mehr qualitative als quantitative Bedeutung haben (s. unten). Immerhin ist aus dem Vergleich zu schließen, daß *Sanchezia* eine größere Absorptionskapazität besitzt als *Helianthus* und *Urtica*.

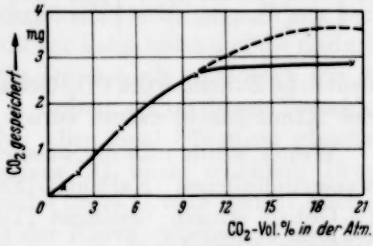


Abb. 2. Zunahme des CO_2-Gehaltes in Blattstücken von *Sanchezia parvibracteata* mit steigendem äußerem Partialdruck (— — — theoretisch zu erwartender Verlauf). Weitere Erklärungen vgl. Text.

4. Speicherung von Atmungskohlensäure.

a) Der CO_2-Gehalt aus Stücken zweier Blatthälften bzw. zweier gleichgroßer Blätter wurde bestimmt, bevor und nachdem die eine Hälfte bzw. das eine Blatt durch eine übergestülpte Papptüte 24 oder 48 Std lang an der Pflanze verdunkelt worden war. Kontrollen des Spaltöffnungszustandes nach der Verdunkelung ergaben, daß die Stomata stets geschlossen waren.

Die Spaltöffnungsweite wurde nach der Infiltrationsmethode nach STÅLFELT (1929a) bestimmt. Flüssigkeiten: 1. Petroläther, 2. Xylol, 3. Benzol, 4. Terpentin, 5. Petroleum, 6. Rizinusöl + Terpentin 1 : 3, 7. Alkohol.

Auch die Verdunkelung (Tabelle 5) bewirkt also bei allen untersuchten CL-Pflanzen im Gegensatz zur CL-losen *Acanthus spinosus* eine

Tabelle 5. *Gesamt-CO_2-Gehalt von Blattstücken vor und nach Verdunkelung (mg CO_2/30 cm² Blattfläche).*
Acanthus spinosus (ohne CL): Unterschiede trotz doppelter Materialmenge so gering, daß die Werte innerhalb der Fehlergrenzen lagen.

Pflanze	1	2	3	4	5	6
	Normale Tagesbelichtung[1]	24 Std verdunkelt	48 Std verdunkelt	24 Std belichtet[2]	% mehr als 1 bzw. 4	
					2	3
Sanchezia nobilis[3] . .	7,35	9,92	10,03		34,9	36
Justitia carnea . . .	3,51	3,51			41,1	
Boehmeria argentea[3] .	2,81	12,09	12,38		42,0	43,3
Boehmeria nivea . . .	2,87	3,97			38,3	
Boehmeria nivea . . .		3,86		2,63	46,4	

[1] Zeit der Bestimmung 15—16 Std. — [2] Nachts mit einer 200-Watt-Lampe. — [3] Einzelbeispiele aus jeweils 5 gleichartigen Versuchsergebnissen.

Tabelle 6. *Gehalt an löslich und unlöslich gebundenem CO_2 und Ca vor und nach 24stündiger Verdunkelung.*

(*Sanchezia parvibracteata;* mg CO_2 bzw. Ca/30 cm² Blattfläche).

Nr.		a	b	c	d	e	f	g	h	i
		Wasserlöslich		Differenz	Wasserunlöslich		Insgesamt		% löslich	
		vor	nach		vor	nach	vor	nach	vor	nach
1	Ca	2,2	3,08	0,88	7,26	6,16	9,46	9,24	23,2	33,3
2	CO_2 (berechnet) .	4,8	6,7	1,9	7,89	6,7	12,78	13,4	37,5	50
3	CO_2 (bestimmt) .	1,68	3,12	1,44	6,40	7,34	8,08	10,46	20,7	30
4	CO_2 (bestimmt) .	1,48	2,95	1,47	6,13	5,91	7,61	8,68	19,3	33,3

deutliche Zunahme des CO_2-Gehalts der Blätter, die nur auf Speicherung der Atmungskohlensäure zurückgeführt werden kann.

Weiter wurde nun die wasserlösliche (Bikarbonat-)Fraktion von der wasserunlöslichen (Karbonat-)Fraktion getrennt und beider CO_2- und Ca-Gehalt einzeln bestimmt (Tabelle 6, Beispiel aus 3 gleichartig verlaufenen Versuchen).

Es zeigt sich also (Tabelle 6), daß das Anwachsen des Gesamtkohlensäuregehalts auf Speicherung durch Bikarbonatbildung zurückzuführen ist. Die Schwankungen des Gehalts an löslich und unlöslich gebundenem CO_2 und Ca bewegen sich im gleichen Sinn. Ein Vergleich der dem Ca-Gehalt äquivalenten CO_2-Mengen mit den analytisch gefundenen (Reihe 2, 3 und 4) zeigt allerdings, daß die ersteren etwa 2—3mal größer sind. Das besagt jedoch nur, daß ein Teil des Ca im Blatt nicht als $Ca(HCO_3)_2$ bzw. $CaCO_3$ vorliegt. [Auch SMITH (1940) fand bei *Helianthus* mehr Ca als der CO_2-Absorption entsprach.] Wichtig ist in Tabelle 6 aber vor allem der quantitative Unterschied der wasserlöslichen Fraktionen (Spalte c). Hier darf die Übereinstimmung als leidlich gut bezeichnet werden unter Berücksichtigung a) einer wahrscheinlichen Inhomogenität des verschiedenen Blattmaterials (vgl. z. B. Reihe 3 und 4) sowie b) der viel komplizierteren chemischen Verhältnisse im Gewebe, als bei der Berechnung von Reihe 2 zugrunde gelegt werden konnte (z. B. andere Puffersysteme, wie Phosphate; organische Säuren).

Der gefundene Gehalt an löslich gebundener Kohlensäure entspricht der Menge an HCO_3^--Ionen + gelösten CO_2-Molekülen. Der Anteil der letzteren berechnet sich aus dem Wassergehalt (1,026 g) und der durchschnittlichen Depression der Löslichkeit durch Elektrolyte des Zellsafts (S. 122) beim CO_2-Partialdruck der gewöhnlichen Atmosphäre auf 3×10^{-4} mg. Er kann hier also praktisch vernachlässigt werden, auch wenn er infolge des höheren inneren Druckes etwas größer sein dürfte.

Dem Normalwert der löslichen Fraktion von 1,68 mg CO_2 entspricht eine Konzentration von 0,035 Mol/l, die durch die Dunkelspeicherung auf 0,068 Mol/l erhöht wird. Diese Werte sind wesentlich höher als bei dem CL-losen *Helianthus* [nach SMITH (1940) 0,1 Mol bei Kontakt mit reiner CO_2-Atmosphäre], offenbar wegen der erheblich größeren Menge an $CaCO_3$ bei den CL-Pflanzen (s. oben).

Da die Speicherung nach weiteren 24 Std keine wesentliche Erhöhung mehr erfuhr (Tabelle 5), obwohl noch genügend Karbonat zur Verfügung stand, muß hier eine obere Grenze gegeben sein. Bei zu hoher CO_2-Druckdifferenz zwischen Blattgewebe und Außenluft wird die Kapazität des Absorptionssystems offenbar überschritten. Wenn auch die Verdunkelung einen Stomaverschluß zur Folge hatte und die dadurch begünstigte Erhöhung des inneren CO_2-Druckes als wesentlich für die Speicherung angesehen werden muß (s. unten), so ist dieser Verschluß nach STÅLFELT (1929 b) doch nie bei allen Spaltöffnungen gleichermaßen so vollständig, daß überschüssiges CO_2 unter erhöhtem Druck nicht entweichen könnte. Für eine solche obere Grenze spricht auch in Abb. 2 (S. 129) die starke Verflachung der Kurve zwischen 10 und 20% CO_2; hier muß bei der anschließenden Auslüftung ein stärkerer Abfall der inneren HCO_3^--Konzentration als nach der Einwirkung niederer äußerer CO_2-Konzentrationen eingetreten sein. Wenn umgekehrt (Tabelle 5, letzte Reihe) nach 24stündiger Belichtung keine wesentliche Verminderung des inneren CO_2-Gehalts gegenüber dem „Normalwert" nach 8—9stündiger Tagesbelichtung gefunden wurde, so weist das darauf hin, daß die Assimilation die Bikarbonatkonzentration ebenfalls nur innerhalb dieses gewissen Spielraums erniedrigen kann. Ein tieferes Absinken wird (bei geöffneten Spalten) durch den äußeren CO_2-Druck verhindert. Daß dem so ist, beweist folgender Versuch: Unterbindet man bei einem seit mehreren Stunden im Tageslicht befindlichen Blatt den Gasaustausch mit der Atmosphäre durch Bestreichen der Ober- und Unterseite mit Vaseline, so wird nach weiterer 3stündiger Lichteinwirkung der CO_2-Gehalt erniedrigt, z. B. bei *Sanchezia nobilis* von 6,79 auf 5,85 mg.

b) Nach diesen unter Versuchsbedingungen erzielten Ergebnissen war nun das natürliche Verhalten des Blattes zu untersuchen.

Hierzu wurden alle 3 Std Gesamt-CO_2-Gehalt, p_H-Wert des Preßsafts und Spaltöffnungsweite bei ein und demselben Blatt von *Boehmeria argentea* bestimmt. Diese Pflanze besitzt sehr große Blätter, die die 7malige Entnahme von 3×10 cm großen Stücken, jeweils zwischen 2 Seitenrippen, ermöglichen. Das Ergebnis dieser Bestimmungen zeigt Abb. 3.

CO_2-Gehalt und Alkalität des Preßsafts stiegen mit dem Einsetzen der Nacht bis zu einem Maximalwert, der 30 min vor Sonnenaufgang erreicht wurde, an. Die Stomata waren dabei geschlossen. Mit beginnender

Tagesbelichtung sanken CO_2- und p_H-Kurve erst etwas rascher, während gleichzeitig die Spalten weit geöffnet waren, dann allmählich wieder zum Anfangswert ab. Die Pflanze speichert also in ihren CL nachts Atmungskohlensäure, wofür der Stomaverschluß die Voraussetzung ist.

Tagesperiodische Aziditätsschwankungen sind auch von anderen Pflanzen her bekannt; so fand MOSEBACH (1940) in den Blattgelenken von *Phaseolus* einen nächtlichen Anstieg der Azidität, der auf Erhöhung des CO_2-Gehalts des Gewebes zurückgeht. Es handelt sich hier also um Bildung von Kohlensäure im Zellwasser (vgl. S. 122,1). *Boehmeria* aber

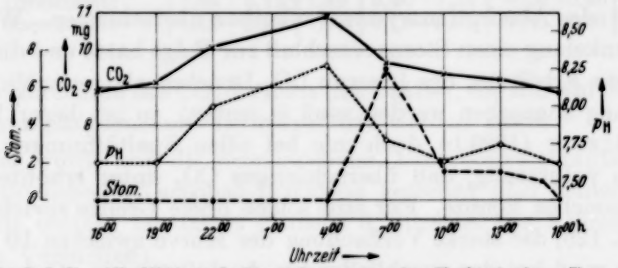


Abb. 3. CO_2-Gehalt, Alkalität und Stomabewegung im Verlauf eines Tages (Mai 1950) bei einem Blatt von *Boehmeria argentea*.

zeigt bei gleicher Ursache im höheren Maße den entgegengesetzten Effekt (vgl. S. 122,2 und Tabelle 1).

Nach HUBER (1941) weisen höhere Pflanzen im Tagesgang ihrer Assimilation das Leistungsmaximum in den frühen Morgenstunden auf. Wenn bei *Boehmeria* in dieser Zeit CO_2-Gehalt der Blätter und Alkalität des Zellwassers rasch absinken, so weist das darauf hin, daß neben der atmosphärischen auch die gespeicherte Kohlensäure im Baustoffwechsel verwendet wird.

5. Atmungsquotienten und CO_2-Mindestkonzentrationen für die Speicherung.

Es erhob sich nun die Frage, ob die bisher festgestellte Speicherung der Atmungskohlensäure auch in der Größe des Atmungsquotienten (< 1?) zum Ausdruck kommt. Tabelle 7 gibt die Ergebnisse einiger Messungen wieder.

Die Atmungsquotienten wurden mit Hilfe der von PRINGSHEIM (1931, 1933) angegebenen manometrischen Methode gemessen. Ein mit elektrischem Rührwerk versehener Wasserthermostat gewährleistete mittels elektrischer Thermoregulation (Beheizung mittels Tauchsieder, automatische Ein- und Ausschaltung durch Hg-Relais) eine Temperaturkonstanz bis auf $\pm$ 0,025° C.

Die Respirationsquotienten liegen bei allen untersuchten Pflanzen sehr nahe am Normalwert bzw. stimmen genau mit diesem überein, das

Tabelle 7. *Atmungsquotienten von Blättern.*

Pflanze	Temperatur Grad	RQ eigene Messungen	RQ andere Autoren
Pelargonium zonale[1]	28,3	1,049	PRINGSHEIM 1,01; ULLRICH und RUHLAND 1,047
Sanchezia nobilis	28,3	1,01	
Sanchezia parvibracteata . . .	28,3	1,0	
Justitia carnea	28,3	1,0	
Boehmeria argentea	28,3	1,02	
Boehmeria nivea	28,3	1,04	
Urtica dioica	28,3	1,0	
Helianthus annuus (ohne CL)	28,3	0,98	

[1] Die Messung an *Pelargonium* erfolgte zur Überprüfung der Methode. Die Übereinstimmung mit den anderen Autoren (PRINGSHEIM 1933, ULLRICH und RUHLAND 1928) zeigt ihre Zuverlässigkeit.

Atmungs-CO_2 wird also während des Versuchs vollständig abgegeben. Zur Erklärung dieses dem Bisherigen anscheinend widersprechenden Verhaltens gibt es zwei Möglichkeiten:

1. Während der 1stündigen Temperaturangleichung an das Wasser des Thermostaten im Dunkeln vor der Messung (vgl. PRINGSHEIM 1931) wird das Absorptionssystem des Blattes bereits vollständig abgesättigt, so daß während der Meßperiode keine weitere Speicherung mehr erfolgen kann.

Um eine solche vorzeitige Absättigung zu verhindern, wurde fortan die Temperaturangleichung bei Belichtung oder bei freigelegter CO_2-Absorptionsfläche des Atmungsgefäßes unter zusätzlichem Aufsatz eines Natronkalkrohres durchgeführt, jedoch ohne das Ergebnis zu ändern.

2. Es bleibt demnach nur die auch aus dem Zusammenhang zwischen CO_2-Speicherung und Stomaverschluß sich ergebende Erklärung, daß zur Bikarbonatbildung aus dem CL-Karbonat ein denjenigen der gewöhnlichen Atmosphäre überschreitender Mindest-CO_2-Partialdruck erforderlich ist.

So auch RABINOWITCH (1945) bei seiner kritischen Besprechung der Ergebnisse SMITHS (1940). Dieser hatte bei frischen *Helianthus*-Blättern eine beträchtlich größere CO_2-Absorption als bei abgetöteten gefunden und dies durch die Atmung der ersteren zu erklären versucht. RABINOWITCH (1945) ist demgegenüber der Meinung, daß zur Bindung des Atmungs-CO_2 an $CaCO_3$ ein höherer innerer Druck notwendig wäre, der in der kurzen Zeit des Versuchs von SMITH (1940) zwischen Evakuierung der Blätter und Zuführung von CO_2 nicht habe erreicht werden können.

Um dieser Vermutung nachzugehen, wurde in das Atmungsgefäß mit den Blattstücken unmittelbar vor der Messung etwas gleichtemperiertes CO_2 eingeblasen, so daß dessen Gehalt etwa 20—30 Vol.-% betrug.

Bei Verschluß des Gefäßes stellte sich sofort der erwartete erhebliche Unterdruck ein, der bei dem CL-Blatt von *Sanchezia* 80 mm, bei dem

CL-losen Blatt von *Pelargonium* dagegen nur 20 mm betrug. Dieses Verhalten entspricht den Ergebnissen von SPOEHR and NEWTON (1925): Die CO_2-Absorption von *Pelargonium* dürfte im wesentlichen nur dem Wassergehalt der Blätter zuzuschreiben sein.

Das gleiche tritt ein, wenn man die Blätter vorher mehrere Stunden im Dunkeln im Atmungsgefäß läßt. Hier bewirkt also das im Gefäß angehäufte Atmungs-CO_2, d. h. der dadurch erhöhte CO_2-Partialdruck die Speicherung.

Nunmehr sollte die zur Speicherung erforderliche Mindestkonzentration an CO_2 ermittelt werden.

Dies geschah in folgender Weise: In das Atmungsgefäß wurden 2 Blattstücke der zu untersuchenden Pflanzen von je 30 cm^2 gebracht. Die Temperaturangleichung (s. oben) ging, um das Blattgewebe in dieser Zeit CO_2-frei zu halten, bei freigelegter CO_2-Absorptionsfläche und aufgesetztem Natronkalkrohr vor sich, worauf die vom Beginn der Messung bis zum Eintritt des Unterdrucks erforderliche Zeit festgestellt wurde. Durch ständige vergleichende Ablesungen des Manometerstandes am Atmungs- und Vergleichsgefäß dürfte eine Genauigkeit auf mindestens $\pm$ 30 sec erzielt worden sein. Während der Temperaturangleichung maßen wir die Atmungsintensität/Zeiteinheit einer gleichen Blattmenge, wobei sich der Rezipient im selben Wasser wie das Atmungsgefäß befand. Dies geschah mittels der Assimilationsapparatur von BOYSEN JENSEN (1934) (vgl. auch S. 135). Das CO_2 der Luft wurde durch ein vor den Rezipienten geschaltetes Natronkalkrohr abfiltriert. Der Titer von 25 cm^3 reinem $Ba(OH)_2$ und der einer gleichen Menge nach Durchsaugung von 2 Litern CO_2-freier Luft stimmten auf $\pm$ 0,3 mm überein. Atmungsgefäß und Rezipient befanden sich in völliger Dunkelheit, lediglich zu den Ablesungen an ersterem wurde grünes Licht einer Taschenlampe verwendet.

Aus der in bestimmter Zeit produzierten Menge an Atmungs-CO_2 und der Zeit bis zum Beginn der Speicherung wurde die zu dieser erforderliche Mindestkonzentration an CO_2 errechnet (Tabelle 8).

Tabelle 8. *CO_2-Mindestkonzentrationen für die Speicherung.*

Pflanze	1 Temperatur Grad	2 CO_2-Produktion von 60 cm^3 (mg CO_2)	3 In Minuten	4 Unterdruck nach Minuten	5 mg CO_2-Produktion in dieser Zeit (Spalte 4)	6 CO_2-Vol. (cm^3) bei T (1) und 740 mm Hg	7 Volumen des At.-Gefäßes (cm^3)	8 CO_2 Vol.-%
Sanchezia parvibracteata	28,3	0,384	10,17	49,5	1,996	1,16	128	0,9
Boehmeria argentea .	28,3	0,336	9,5	54	1,915	1,13	128	0,87
Helianthus annuus (ohne CL)	28,3	0,624	10,0	44,5	2,808	1,4	128	1,0

Die Werte (Tabelle 8) liegen also, sowohl bei den CL-Pflanzen als auch bei dem (CL-losen, aber auch $CaCO_3$-haltigen) *Helianthus*, nahe bei 1 Vol.-% CO_2. Bei dieser Konzentration beginnt demnach, wie auch der frühere Befund (Tabelle 4, Abb. 2) zeigte, bereits die Speicherung.

C. Verwendung der gespeicherten Kohlensäure in der Photosynthese.

Die Frage, ob Bikarbonationen als solche in die Photosynthese eingehen oder nur (im vorliegenden Fall aus dem CO_3^{-2}-HCO_3^--CO_2-Gleichgewichtssystem stammende) CO_2-Moleküle, ist noch nicht sicher geklärt. Neuere Befunde von Steemann Nielsen und Kristiansen (1949) scheinen für den ersteren Fall zu sprechen. Die Autoren schließen aus dem kürzlich entdeckten Vorkommen des Enzyms Carboanhydrase bei Wasser- und auch bei Landpflanzen, daß die Hydratation des CO_2 den ersten Schritt der Photosynthese darstellt.

Daß im Dunkeln in Form von Bikarbonat gespeichertes CO_2 später in der Photosynthese verwendet werden kann, haben Smith and Cowie (1941) an *Helianthus* (s. oben) bewiesen. Dasselbe soll im folgenden für CL-Blätter nachgewiesen werden.

Methode. Die Assimilation wurde nach Boysen Jensen (1934) gemessen. CO_2-Quelle war die atmosphärische Luft. Es wurde für ständige gute Durchlüftung des Dunkelraumes Sorge getragen und der CO_2-Gehalt der Luft laufend kontrolliert. Er betrug 0,0335 ∓ 0,0025 Vol.-%. Zur Messung der Lichtintensität diente an Stelle des umständlichen Rhodamin-B-Papierverfahrens (Boysen Jensen 1934) ein Luxmeter der Firma Gossen, Erlangen, auf welches das von Boysen Jensen (1934) angegebene rote Glasfilter aufgesetzt wurde. Temperatur im Thermostaten stets 20° C.

1. Die CO_2-Aufnahme bei der Assimilation.

Zuerst wurden die Assimilationskurven zweier CL-Blätter, besonders in den niedrigen Lichtbereichen, bestimmt (Abb. 4).

Die Kurven zeigen nur die für Schattenpflanzen typische niedrige Lage des Kompensationspunktes und Erreichung des Optimums schon bei geringen Lichtintensitäten. Beides ist als Ausdruck der ökologischen Eigenart beider Pflanzen (s. Abschnitt D) anzusehen; den CL dürfte bei ersterer keine besondere Bedeutung zukommen.

Aufschlußreicher erschien der Verlauf der CO_2-Aufnahme aus der Luft bei konstanter Lichtintensität vor und nach Speicherung in CO_2-Atmosphäre und im Dunkeln. Gemessen wurde alle 10 min bei 3000 B.J.-Lux und 20° die CO_2-Aufnahme eines 30 cm^2 großen Blattstückes.

Die Zeit (Stoppuhr) der Durchsaugung von 1,9 Liter Luft betrug 8 min 30 sec ∓ 15 sec. Die zu untersuchenden Blätter kamen unter eine Glasglocke mit bestimmter CO_2-Konzentration (vgl. S. 127) und wurden darin 2 Std bei diffusem Tageslicht, damit der Spaltöffnungszustand keine Veränderung erfuhr (Kontrolle vor und nach dieser Behandlung), belassen. Dann schnitten wir jeweils ein 30 cm^2 großes Stück mit Mittelrippe aus, brachten es sofort in den Rezipienten und begannen mit der Messung. Auf die Entlüftung, wie sie vor den CO_2-Bestimmungen vorgenommen wurde, mußte hier verzichtet werden, da dann im Licht assimiliert bzw. im Dunkeln der Spaltöffnungszustand beeinflußt worden wäre. Dieser wurde auch vor und nach jeder Meßreihe kontrolliert (Infiltrationsmethode, S. 129). Die durch den sofortigen Beginn der Messungen bedingte anfängliche Erniedrigung der CO_2-Aufnahme (vgl. Boysen Jensen 1934) konnte durch Vergleich

mit dem entsprechenden Verhalten normal gehaltener Blätter der gleichen Pflanzen leicht in Rechnung gestellt werden.

Das Ergebnis an 3 verschiedenen Pflanzen zeigt Abb. 5a—c.

Während bei den unter normalen Bedingungen (Tageslicht, gewöhnliche Luft) gehaltenen Blättern die Aufnahme von CO_2 aus der Außenluft unter anfänglich geringer Zunahme bereits nach 10—20 min ihren

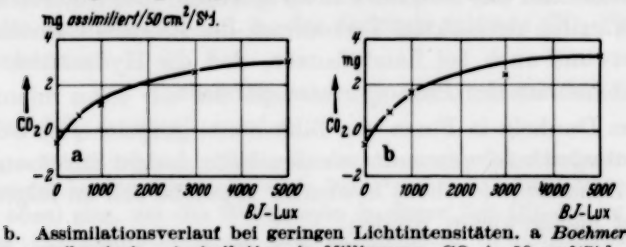


Abb. 4a u. b. Assimilationsverlauf bei geringen Lichtintensitäten. a *Boehmeria argentea*; b *Sanchezia parvibracteata*. Assimilation in Milligramm CO_2 je 50 cm²/Std. Belichtung in B.J.-Lux.

maximalen Wert erreicht, ist sie bei den vorher in Luft mit höherem CO_2-Gehalt angereicherten CL-Blättern anfangs sehr niedrig, um erst allmählich zum konstanten Endwert anzusteigen. Dieser wird bei *Sanchezia parvibracteata* (Abb. 5a) nach Speicherung in Luft mit 3 Vol.-%

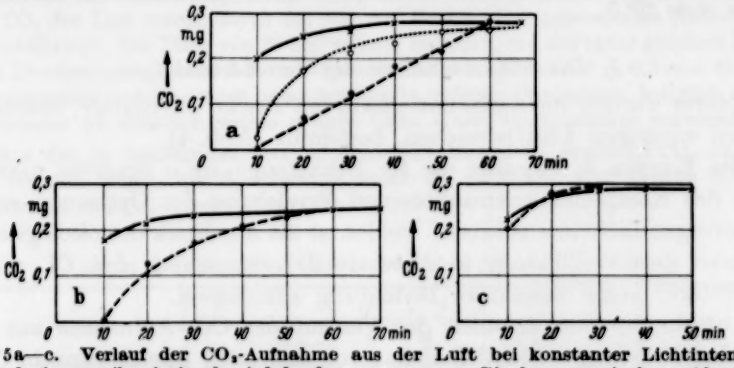


Abb. 5a—c. Verlauf der CO_2-Aufnahme aus der Luft bei konstanter Lichtintensität. a *Sanchezia parvibracteata*; b *Aphelandra squarrosa*; c *Cinchona succirubra*. Abszissen: Minuten nach Versuchsbeginn. Ordinaten: mg/30 cm³ in 8 min 30 sec bei 3000 B.J.-Lux aufgenommenes CO_2. —— gewöhnliche Luft; - - - - Luft mit 3 Vol.-% CO_2. ——— Luft mit 10 Vol.-% CO_2.

CO_2 annähernd nach 40 min erreicht, mit 10 Vol.-% CO_2 sogar erst nach 60 min. Das entspricht dem früher festgestellten Verhalten: eine dem höheren äußeren CO_2-Partialdruck entsprechende größere innere HCO_3^--Konzentration hat auch eine längere Abhängigkeit vom CO_2 der Außenluft zur Folge.

Zum Vergleich wurde nun derselbe Versuch mit Blättern der CL-freien Acanthacee *Aphelandra squarrosa*, die im Habitus *Sanchezia* ähnelt, durchgeführt. Merkwürdigerweise zeigt aber auch hier das in Luft mit 10 Vol.-% CO_2 vorbehandelte Blatt (Abb. 5b) eine nur allmäh-

lich ansteigende CO_2-Aufnahme, die etwa der Kurve von *Sanchezia* nach Speicherung in Luft mit 3 Vol.-% CO_2 entspricht. Bei näherer anatomischer Untersuchung stellte sich aber heraus, daß auch *Aphelandra* im Blatt größere $CaCO_3$-Kristalle besitzt. Diese fielen erst durch CO_2-Entwicklung nach Säurezugabe auf; sie weisen nicht die typische CL-Form und -struktur auf und sind in viel geringerer Dichte (in Abständen von einigen Millimetern) in der Blattfläche verteilt. Daher liegt offenbar auch der p_H-Wert des Preßsafts noch im sauren Bereich (6,5).

Als nichtspeichernde Vergleichspflanze wurde nun *Cinchona succirubra* (Abb. 5c) gewählt (p_H 5,07), deren stomatäre Verhältnisse auch am besten mit denen von *Sanchezia* und *Aphelandra* übereinstimmen. Hier zeigt sich der Unterschied zu den speicherungsfähigen Blättern sehr deutlich: Das vorher in Luft mit 10 Vol.-% CO_2 gehaltene Blatt weist nur bei der ersten Messung eine etwas geringere CO_2-Aufnahme (die wahrscheinlich der noch in den Interzellularen befindlichen Kohlensäure zuzuschreiben ist) als das normal gehaltene auf, und schon nach 20 min ist die konstante Höhe erreicht.

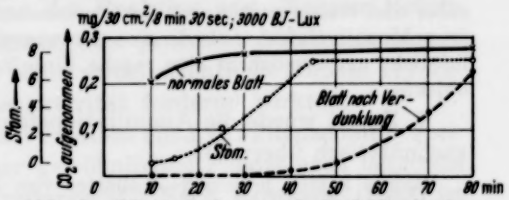


Abb. 6. CO_2-Aufnahme und Spaltöffnungsbewegungen nach 24stündiger Dunkelspeicherung (*Sanchezia parvibracteata*).

Es wurde nunmehr auch ein verdunkelt gewesenes Blatt von *Sanchezia parvibracteata* auf dieselbe anfängliche Hemmung der CO_2-Aufnahme geprüft. Da diese Messungen bei erst allmählich im Versuchslicht sich öffnenden Spalten vorzunehmen waren, wurde in einem Kontrollversuch die Öffnung der Stomata an einem anderen Stück desselben Blattes verfolgt (Abb. 6).

Die CO_2-Aufnahme eines 24 Std verdunkelt gewesenen Blattes von *Sanchezia parvibracteata* ist also bis 40 min nach Versuchsbeginn praktisch gleich Null, obwohl sich in dieser Zeit die Stomata schon weitgehend geöffnet haben. Ab 45 min nach Beginn der Belichtung sind sie vollständig offen, erst jetzt erfolgt ein allmählicher Anstieg der CO_2-Aufnahme, die schließlich nach 80 min annähernd den konstanten Endwert des normal gehaltenen Blattes erreicht.

Durch diese Versuche ist der oben geforderte Beweis erbracht. Die gespeicherte Kohlensäure wird anfangs ausschließlich, dann mit abnehmender innerer Konzentration in immer sinkendem Maße zusammen mit atmosphärischem CO_2 assimiliert.

2. Versuche unter Ausschaltung des atmosphärischen CO_2.

Nach den bisher gewonnenen Ergebnissen müssen die CL-Pflanzen in der Lage sein, nach vorheriger CO_2-Speicherung auch unter Abschluß

des atmosphärischen CO_2 eine Weile zu assimilieren. Das beweisen die folgenden Versuche.

Methode. Wir benutzten die von MEVIUS (1935) und ROMBECK (1943) angegebene Apparatur. Die Versuchsobjekte kamen unter eine luftdicht abschließende Glasglocke von etwa 2,5 Liter Rauminhalt, durch die in kontinuierlichem Strom CO_2-freie Luft gesaugt wurde. Die atmosphärische Luft passierte vor der Glocke ein Natronkalkrohr und 2 mit konzentrierter NaOH bzw. $Ba(OH)_2$ gefüllte Waschflaschen, hinter der Glocke abermals 1 Waschflasche mit konzentrierter NaOH. Beim 3. Versuch wurde außerdem ein Schälchen mit konzentrierter KOH unter die Glocke gebracht. Als Unterlage diente eine Petrischale mit hohem Rand von 18 cm Durchmesser, in die mittels „Hostakol" ein Glasring von 16 cm Durchmesser eingekittet wurde. Der so entstandene periphere Ringkanal wurde mit Quecksilber und Wasser gefüllt und der Glockenrand in ihn eingefügt. Dieser Verschluß ist wesentlich einfacher als der von den angegebenen Autoren verwendete, absolut luftdicht und ermöglicht eine rasche Einbringung und Entnahme der Versuchsobjekte.

1. Zuerst wurde die Assimilationsfähigkeit in CO_2-freier Atmosphäre gasanalytisch überprüft.

Hierzu kamen jeweils 2—3 Blätter von *Sanchezia parvibracteata*, *Boehmeria argentea* und *Begonia spec.* nach Verdunkelung bzw. nach 3stündiger Speicherung in Luft mit 3% CO_2 unter die Glasglocke. Diese wurde dann sofort 2 min lang kräftig mit CO_2-freier Luft durchgespült, worauf die Zu- und Ableitungsrohre mit Quetschhähnen verschlossen wurden. Die Glocke blieb dann 6 Std lang in hellem diffusen Tageslicht. Das Gas wurde danach mit Hilfe einer Bunte-Bürette analysiert. Als Absorptionsflüssigkeit für O_2 diente alkalische Pyrogallollösung, als Sperrflüssigkeit gesättigte angesäuerte NaCl-Lösung.

Tabelle 9. *O_2-Konzentrationen in CO_2-freier Versuchsluft (Vol.-%).*

Pflanze	Menge	Vorbehandlung	O_2-Konzentrationen	
			vor	nach
			6 stündiger Belichtung	
Sanchezia parvibracteata .	4 Blätter	50 Std verdunkelt	21,01	21,5
Boehmeria argentea . . .	1 großes Blatt	50 Std verdunkelt	21,0	21,3
Begonia spec.	2 Blätter	50 Std verdunkelt	21,0	20,95

Die Assimilation der CL-Blätter im CO_2-freien Raum nach innerer CO_2-Speicherung (Tabelle 9) ist also an ihrer Sauerstoffausscheidung erkennbar. Blätter von *Begonia* mit sehr saurem Zellsaft ($p_H \sim 4$) verändern dagegen die Sauerstoffkonzentration der Versuchsluft praktisch nicht.

2. Somit muß es den CL-Pflanzen auch möglich sein, bei geschlossenen Spaltöffnungen zu assimilieren. Zur Prüfung dieser Annahme wurden Blätter von *Sanchezia nobilis* 48 Std lang an der Pflanze verdunkelt, danach auf jeder Blatthälfte 2 Interkostalfelder beiderseits mit Vaseline bestrichen und das Blatt an der Pflanze hellem diffusen Tageslicht ausgesetzt. Unter der Voraussetzung, daß bei einer Zuckerkonzentration

von 0,2% Kondensation zu Stärke erfolgt, müßte die nach 48stündiger Verdunkelung erreichte HCO_3^--Konzentration von etwa 0,05 Mol/l zur Stärkebildung ausreichen. Zu deren Nachweis diente die Sachssche Stärkeprobe.

Nach 8-, 6- und 5stündiger Belichtung wurde in den bestrichenen Interkostalfeldern keine Blaufärbung erhalten, sondern erst, nachdem die Belichtungszeit auf 3 Std 30 min verkürzt worden war. Der Ton der Jodfärbung war zwar etwas heller als der der unbehandelten Fläche, deren Spalten offengeblieben waren, doch hob er sich scharf gegen die ungefärbte, ständig verdunkelt gewesenene Blattspitze ab.

Der Grund für das Ausbleiben der Reaktion nach längerer Belichtung dürfte in einer Wiederauflösung der ja nur in begrenzter Menge gebildeten Stärke zu erblicken sein, wobei eventuell erhöhte Hydratation des Plasmas und Amylaseaktivität fördernd wirkten.

3. Schließlich wurde noch das Verhalten einer CL-Pflanze mit gespeichertem CO_2 gegenüber dem einer gewöhnlichen Pflanze nach längerem Verbleib im CO_2-freien Raum untersucht. Nach Rombeck (1943) ist die Folge langwährenden CO_2-Entzugs im Licht erhöhter Eiweißabbau, dessen Beginn von Art und Menge der gebildeten Assimilate abhängt. Wenn daher entsprechend vorbehandelte CL-Blätter in der Lage sind, noch einige Zeit zu assimilieren, so müssen sie anderen Pflanzen gegenüber im Vorteil sein.

a) Stecklinge von *Ruellia spec.* und junge Pflanzen von *Thunbergia alata* (einer Acanthacee *ohne* CL und $CaCO_3$), beide in Knopscher Nährlösung, wurden 40 Std verdunkelt und bei Tagesbelichtung in den CO_2-freien Raum gebracht. Nach 4 Tagen trat bei *Thunbergia* Vergilbung der unteren Blätter ein, die in der folgenden Zeit rasch auch die übrigen Blätter erfaßte und zu deren Abfall führte [so auch bei *Tradescantia, Zebrina, Panicum* u. a. (Mevius 1935)]. Am 8. Versuchstag befanden sich nur noch die beiden obersten, ebenfalls schon gelben Blätter an der Pflanze. *Ruellia* zeigte dagegen nach dieser Zeit noch kaum eine pathologische Veränderung. Ein später durchgeführter gleichartiger Versuch ergab dasselbe Bild.

Wenn dieses unterschiedliche Verhalten der CL-haltigen und der CL-freien Pflanze auch sehr wahrscheinlich auf die in ersterer gespeicherte Kohlensäure zurückzuführen ist, so bleiben doch noch Zweifel wegen der artlichen Verschiedenheit beider Pflanzen.

b) Deshalb wurde der folgende Versuch mit je 2 *Ruellia*-Pflanzen durchgeführt. Die einen wurden 60 Std verdunkelt und speicherten entsprechend CO_2, die anderen blieben gleichzeitig dem normalen täglichen Belichtungsgang ausgesetzt. Darauf kamen alle an einem frühen Nachmittag in den CO_2-freien Raum. Während der 1. Nacht erfolgte künstliche Belichtung.

Der erste Unterschied zwischen den Licht- und Dunkelpflanzen zeigte sich nach 8 Tagen (in der gleichen Art wie bei *Thunbergia*) darin, daß die Blätter der Dunkelpflanzen erst 1—2 Tage später abstarben. Die Lichtpflanzen hielten bis zum Ende des Versuchs (17. Tag) diesen Vorsprung. Bei einem späteren Wiederholungsversuch trat das Absterben der Blätter bei allen Pflanzen annähernd zur gleichen Zeit ein. Trotz des quantitativen Unterschiedes der Ergebnisse dieser gleichartigen Versuche, dessen Ursachen schwer faßbar erscheinen, sind sie wesentlich anders, als nach ROMBECK (1943) zu erwarten wäre:

Danach hätten unbedingt die Lichtpflanzen mit ihren stärkehaltigen Blättern länger lebensfähig sein müssen als die Dunkelpflanzen, die ihre Stärke vor Versuchsbeginn aufgebraucht hatten. Da diese jedoch auf ihren inneren CO_2-Vorrat zurückzugreifen in der Lage waren, konnten sie den Mangel an gespeicherten Assimilaten durch Bildung neuer mehr oder weniger kompensieren.

D. Zur Bedeutung der Cystolithen unter natürlichen Standortverhältnissen.

Die von uns untersuchten Acanthaceen und Urticaceen sind (nach ENGLER-DRUDE 1911, ENGLER-PRANTL 1897 und HEGI 1936) nebst dem größten Teil ihrer Verwandten Bewohner tropischer Gebiete. Urticaceen finden sich vorwiegend als schatten- und feuchtigkeitliebende Kräuter, Acanthaceen auch als Sträucher, also in Bodennähe des Regenwaldes. Letztere kommen aber auch in anderen Formationen vor, so in Steppen, Sümpfen und sogar in Wüsten. Außertropische Formen sind neben den mediterranen (CL-freien) *Acanthus*-Arten nur die *Urtica*- und *Parietaria*-Arten der gemäßigten Zone. Diese treten vielfach als anthropophile Ruderalpflanzen auf, daneben — ähnlich wie ihre tropischen Verwandten — hauptsächlich am Boden schattiger Auen- und Bergwälder.

Für eine Beurteilung der Bedeutung der CL im Sinne einer CO_2-Speicherung sind insbesondere die Licht- und CO_2-Verhältnisse dieser Standorte wesentlich.

1. Lichtverhältnisse.

a) Tropischer Regenwald. Hier herrscht ein graues Dämmerlicht, dessen Intensität erheblich weniger als 1% des vollen Lichtes beträgt und vielfach nur wenige tausendstel desselben erreicht (BÜNNING 1947). STOCKER (1935) gibt für den Regenwald von W-Java (1400 m Meereshöhe) als Höchstwerte eines Tages für die Bodenschicht 0,016 Davos-Einheiten/min (etwa 500 Lux), für das Epiphytenniveau (1,7 m über dem Boden) 0,1 DE (etwa 3200 Lux) an. Die Nacht dauert rund 12 Std bei sehr kurzer Dämmerung.

b) In den Wäldern der gemäßigten Zone dürften den am Boden lebenden *Urtica*- und *Parietaria*-Arten selten mehr als 1% des vollen Lichts [wie es LUNDEGÅRDH (1925) für die hellsten *Oxalis*-Standorte angibt] zur Verfügung stehen. BOYSEN JENSEN (1932) fand an den entsprechenden Standorten junger Eschenpflanzen 0,5%, an denen junger Buchenpflanzen nur 0,25% des vollen Lichts.

2. CO_2-Konzentrationen.

a) Für den tropischen Regenwald sind die bisher vorliegenden Angaben über den CO_2-Gehalt recht uneinheitlich. Während nach älteren Messungen ziemlich hohe Konzentrationen vorzuherrschen schienen, fand STOCKER (1935) auch in Bodennähe nie wesentlich mehr als 0,04 Vol.-% CO_2. Jedoch ist zu bedenken, daß sich diese Messungen auf einen ziemlich kühlen Bergwald beziehen. Nach BÜNNING (1947) ist die CO_2-Konzentration erheblich vom Charakter des Waldes abhängig, namentlich von seiner Höhe über dem Meer. Für die Wälder der Ebene im extrem feuchten Gebiet gibt er nächtliche Konzentrationen bis 0,1 Vol.-% in den bodennahen Schichten (0—30 cm Höhe) an, die sich im Verlauf des Tages auf 0,03 Vol.-% verringern. In etwas trockeneren Wäldern wurden nicht ganz so hohe Werte gemessen. EVENS (1939) fand in den unteren Schichten des Waldes von Nigeria bis 0,06 Vol.-% CO_2. BÜNNING (1947) hält es jedoch für wahrscheinlich, daß durch den Experimentator eine nicht unerhebliche Störung der Luftschichtung hervorgerufen wird und daß ohne eine solche wesentlich höhere Werte (bis 0,2 Vol.-% und mehr) erreicht werden.

b) In den Wäldern der gemäßigten Zone sind die Konzentrationen niedriger. Nach LUNDEGÅRDH (1925) wurden in *Viola-palustris-Oxalis-acetosella*-Assoziationen Werte bis 0,08 Vol.-% gemessen. FEHÉR (1927) gibt als durchnittliche Konzentrationen in der bodennahen Schicht für einen Kiefernwald 0,038, für einen Buchenwald 0,042 Vol.-% CO_2 gegenüber einem Normalgehalt der freien Atmosphäre von 0,03 Vol.-% an.

3. Seitens der Pflanze ist für eine CO_2-Speicherung der Zustand der Spaltöffnungen von Bedeutung.

Verschlossene Stomata sind unter den im Wald gegebenen Licht- und Feuchtigkeitsverhältnissen nach den Ergebnissen STÅLFELTS (1929 b, 1932) im wesentlichen nur nachts zu erwarten. Ob *Boehmeria* und *Sanchezia* auch, wie es im Gewächshaus beobachtet wurde, am natürlichen Standort ihre Spalten schon am Nachmittag schließen, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden.

Für die Urticaceen der gemäßigten Zone und insbesondere die nicht im Wald lebenden Acanthaceen dagegen ist neben dem nächtlichen auch mit häufigerem Spaltenverschluß am Tage zu rechnen, um so mehr, je trockener der Standort ist (LOTFIELD 1921, WEBER 1923).

Die ernährungsphysiologischen Vorteile, die sich unter diesen Verhältnissen für die CL-Pflanzen ergeben, liegen in erster Linie in der Schaffung eines inneren CO_2-Vorrats im Verlauf der Nacht, der später zusätzlich zur Assimilation zur Verfügung steht. Eine solche Speicherung kann jedoch nur durch Atmung bei geschlossenen Spalten erfolgen, wobei höhere äußere CO_2-Konzentrationen, insbesondere in tropischen Wäldern, nach unseren Ergebnissen begünstigend wirken müssen. Falls die Stomata auch nachts offenbleiben (womit im Regenwald auch zu rechnen wäre), so kann nach WILLSTÄTTER und STOLL (1918) auch eine gewisse CO_2-Aufnahme von außen erfolgen, doch wären dann zu einer Speicherung in dem Maße, wie sie experimentell erzielt wurde, die Konzentrationen auch im günstigsten Fall nicht hoch genug. Bei Pflanzen trockenerer Standorte dürften jedoch die stomatären Verhältnisse regelmäßig eine beträchtliche Speicherung der Atmungskohlensäure zulassen.

Für die Assimilation bedeutet ein innerer CO_2-Vorrat eine wesentliche Erhöhung des CO_2-Faktors, der ja bei natürlicher Größe und den geringen Lichtintensitäten an den betrachteten Waldstandorten stark unterwertig ist. Dies hatte bereits SPOEHR (1926) anschließend an seine Untersuchungen vermutet. Für die außertropischen Arten muß diese Ausnutzung des schwachen Lichtes der viel längeren abendlichen und besonders morgendlichen Dämmerungszeiten wohl noch von größerer Bedeutung sein. Die CL-Pflanzen trockener Standorte sind außerdem, wenn sie ihre Spalten bei noch vollem Tageslicht schließen, trotzdem in der Lage, noch einige Zeit zu assimilieren, bis das Absorptionssystem kein CO_2 mehr hergibt.

Die CL bieten also den mit ihnen ausgestatteten Pflanzen unter allen Standortverhältnissen gewisse unverkennbare Vorteile für die Photosynthese, die unter den soeben angedeuteten Umständen recht beträchtlich werden können. Doch werden die an sich vorhandenen Möglichkeiten unter den in der Natur gegebenen Verhältnissen bei weitem nicht voll ausgeschöpft, wie insbesondere der gewaltige Überschuß an $CaCO_3$ zeigt.

E. Besprechung der Ergebnisse.

Aus dem soeben angeführten Grund wird man den CL als Speicherorganen für Kohlensäure kaum mehr als eine Nebenfunktion zuschreiben dürfen, ohne daß andererseits die übliche Deutung als Ablagerungsstätten für überschüssiges Kalzium deshalb an Gewicht gewönne. Vielmehr scheint uns (wie auch WIELER 1940) diese nächstliegende Auffassung durch das (bereits auf S. 121 erwähnte) Ergebnis FREISLEBENS (1933), das er freilich nicht in seine Schlußfolgerung einbezieht, doch ziemlich erschüttert: Wenn die CL auch bei so gut wie fehlendem Angebot von Ca dieses ablagern, kann man wohl kaum von einer „Kalkreinigung" sprechen. Angesichts dieses Standes unseres Wissens scheint es uns weder möglich noch statthaft, spekulativen Deutungen kausaler oder teleologischer Art Raum zu geben. Die „Rekrettheorie" (FREY-WYSSLING 1935, FREISLEBEN 1933 u. a.) kann hier auch nicht befriedigen. Eine Eliminierung von Ca-Überschuß aus den Geweben wird ja durch die CL noch weniger als durch die weit verbreitete Bindung an Oxalsäure in Vakuolen erreicht. Zwar ist das Ionenprodukt des $CaCO_3$ ($= 1{,}0 \times 10^{-8}$) kaum 6mal größer als das des CaC_2O_4 ($= 1{,}8 \times 10^{-9}$), doch wird das Ca, wie wir gezeigt haben, zeitweise, d. h. bei hohem CO_2-Partialdruck immer wieder in Lösung übergeführt, so daß gelöstes $Ca(HCO_3)_2$ von den toten Lithocysten aus das umgebende Gewebe umspült. Daß es in dessen Zellen aufgenommen wird, zeigt der Überschuß an OH^--Ionen in diesen, welchen FREISLEBEN (1933) mit Vitalindikatoren einwandfrei nachgewiesen hat. Bekanntlich gehören alkalisch reagierende Vakuolen in lebenden Zellen zu den allergrößten Seltenheiten.

Daß das fixierte Atmungs-CO_2 außer für die Photosynthese auch noch anderweitige Bedeutung (Recarboxylierung usw.) haben kann, möge nicht unerwähnt bleiben.

Eine allseitig befriedigende Deutung der Funktion der CL kann aber noch immer nicht gegeben werden.

Zusammenfassung.

1. Die Blätter von Cystolithenpflanzen können zunehmend mit dem CO_2-Partialdruck durch Überführung des Cystolithenkalks in Kalziumbikarbonat Kohlensäure speichern.

2. Zu dieser Speicherung ist eine Mindestkonzentration an CO_2 notwendig, die höher als die der gewöhnlichen Atmosphäre ist und unter unseren Versuchsbedingungen etwa bei 1 Vol.-% lag.

3. Zu Zeiten oder unter Versuchsbedingungen fehlender Photosynthese wird bei Erreichung dieser Grenzkonzentration auch Atmungskohlensäure gespeichert, sofern die Spaltöffnungen geschlossen sind.

4. Ein solcher innerer CO_2-Vorrat wird bei einer auf die Speicherperiode folgenden Belichtung photosynthetisch verwendet; bei sich öffnenden Spalten in abnehmendem Maß zusammen mit atmosphärischem CO_2, bei geschlossenen allein.

5. Auch in CO_2-freier Atmosphäre bleiben die Cystolithenblätter nach vorheriger Speicherung von CO_2 eine Zeitlang assimilationsfähig und bilden Stärke.

6. Den Cystolithenpflanzen gewähren auch ihre natürlichen Standortverhältnisse mehr oder weniger große Möglichkeiten zur Speicherung von Atmungs-CO_2, so daß sie dadurch für ihre Assimilation Vorteile besitzen. Trotzdem werden die an sich gegebenen Möglichkeiten bei weitem nicht voll ausgenutzt.

7. Diese Speicherfunktion der Cystolithen scheint uns daher keine erschöpfende ökologische Charakteristik der letzteren zu gestatten, was aber nicht weniger auch für die „Rekrettheorie" (Frey-Wyssling 1935 u. a.) gelten dürfte.

Die Untersuchungen zu vorliegender Arbeit wurden von Mai 1949 bis Dezember 1950 im Botanischen Institut der Universität Erlangen durchgeführt. Die aufgewendeten Mittel stammten zum Teil dankenswerterweise von der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft. Herrn Prof. Dr. Dr. W. Ruhland sei für die Anregung und ständige Förderung der Arbeit herzlichst gedankt.

Literatur.

Ajello, L.: Amer. J. Bot. **28**, 589 (1941). — Arens, K.: Jb. Bot. **80**, 248 (1934). Boysen Jensen, P.: Die Stoffproduktion der Pflanzen. Jena 1932. — Planta (Berl.) **21**, 368 (1934). — Bünning, E.: In den Wäldern Nordsumatras. Bonn: F. Dümmler 1947. — Chareyre, J.: Rev. Sci. nat. Montpellier, III. ser. **4**, 1 (1884). Denny, E. F.: Contr. Boyce Thompson Inst. **14**, 275 (1947). — Engler-Drude:

Veg. Erde **3**, 1 (1915); **12** (1911). — Engler-Prantl: Natürliche Pflanzenfamilien, 1. Aufl., Bd. IV/3b. 1897. — Evens, G. C.: J. Ecology **27**, 436 (1939). — Fehér, D.: Flora (Jena) **121**, 316 (1927). — Fife, J. M., and V. Frampton: J. of biol. Chem. **109**, 643 (1935). — Freisleben, R.: Flora (Jena), N.F. **27**, 1 (1933/34). — Frey-Wyssling, A.: Die Stoffausscheidungen der höheren Pflanzen. Berlin 1935. — Hegi: Illustrierte Flora von Mitteleuropa. 1936. — Huber, B.: Pflanzenphysiologie. Leipzig 1941. — Landolt-Börnstein: Physikalisch-Chemische Tabellen, herausgeg. von A. Roth u. K. Scheel. Berlin 1923. — Lehmann, C.: Planta (Berl.) **1**, 343 (1925). — Leuthold, P.: Diss. E. T. H. Zürich 1934. — Lippmann, E.: Bot. Archiv **11**, 361 (1925). — Lockemann, G.: Aschenanalyse. In Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Liefg **31**, S. 825. 1921. — Lotfield, J. V. G.: Publ. Carneg. Inst. Wash. **1921**, 314. — Lundegårdh, H.: Klima und Boden in ihrer Wirkung auf das Pflanzenleben, S. 75 u. 356f. Jena 1925. — Mevius, W.: Jb. Bot. **89**, 20 (1940). — Molisch, H.: Mikrochemie der Pflanzen. Jena 1921. Mosebach, G.: J. Bot. **89**, 20 (1940). — Pringsheim, E.: Planta (Berl.) **15**, 431 (1931); **19**, 653 (1933). — Rabinowitch, E. J.: Photosynthesis and Related Processes I, Kap. 8, I. New York 1945. — Rombeck, F.: Jb. Bot. **91**, 187 (1943). — Smith, J. H. C.: Plant Physiology **15**, 183 (1940). — Smith, J. H. C., and D. B. Cowie: Plant Physiology **16**, 257 (1941). — Spoehr, H. A.: Photosynthesis N. Y. **1926**, 310. — Spoehr, H. A., and W. Newton: Yb. Carneg. Inst. Wash. **25**, 163 (1925). — Steemann Nielsen, E.: Physiol. Plantarum **2**, 4 (1949). — Stålfelt, M. G.: Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Liefg 300, S. 170. 1929a. — Planta (Berl.) 8, 287 (1929b); **17**, 22 (1932). — Stocker, O.: Planta (Berl.) **24**, 402 (1935). — Ullrich, H., u. W. Ruhland: Planta (Berl.) **5**, 360 (1928). — Wieler, A.: Protoplasma (Berl.) **34**, 70 (1940). — Willard, H. H. and N. H. Furman: Elementary Quantitative Analysis. Wisconsin: Madison 1944. — Willstätter, R., u. A. Stoll: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, 3. Abh., S. 172—217. Berlin 1918.

Dr. Franz Hubertus Rabiger, Erlangen, Henkestr. 40.

Planta, Bd. 40, S. 145—169 (1951).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen.

ÜBER DEN HEMMSTOFF- UND WUCHSSTOFFGEHALT IN GETREIDEWURZELN.

Von

ILSE VOGT.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Juli 1951.)

Über die Wechselbeziehungen zwischen Hemmstoffen (HS) und Wuchsstoffen (WS) bei den Pflanzen (LARSEN 1939/40, VOSS 1939/40, LINSER 1940/41, FUNKE-SÖDING 1948, MOEWUS 1949, POHL und TEGETHOFF 1949) sind zwei Ansichten besonders hervorzuheben: nach VOSS und MOEWUS soll der HS als WS-Antagonist das Reaktionsvermögen der Zellen auf WS herabsetzen, während nach POHL und TEGETHOFF der HS als WS-Inaktivator wirken soll.

Zu diesen Ergebnissen ist man hauptsächlich durch Untersuchungen an Samen, Sprossen und Früchten gekommen, während die Wurzeln so gut wie unberücksichtigt geblieben sind. Nur OSWALD (1935) hat bei einer ökologischen Arbeit festgestellt, daß ein Extrakt aus Graswurzeln je nach der Konzentration hemmend oder fördernd wirken kann.

Ziel der nachstehenden Untersuchungen ist, die Wurzeln einiger Pflanzen auf ihren HS- und WS-Gehalt zu untersuchen und nähere Einblicke in das Wechselverhältnis dieser beiden Stoffgruppen zueinander zu gewinnen, um nach Möglichkeit eine Klärung der obigen Problematik herbeizuführen. Nach der ersten Niederschrift der Arbeit wurden die Untersuchungen von TEGETHOFF (1951) veröffentlicht, die eine Klärung des Wechselverhältnisses von WS und HS herbeiführten, so daß einige Versuche nur in gekürzter Form wiedergegeben zu werden brauchen.

I. Methodik.

Der HS- und WS-Gehalt der Wurzeln wurde an Gersten-, Roggen- und Weizenpflanzen untersucht. Es wurden Extrakte aus den Wurzeln hergestellt und in diesen dann Testpflanzen kultiviert, um die Wirkung der Extrakte auf die Längenzunahme der Sprosse und Wurzeln[1] zu messen.

1. Aufzucht der Pflanzen.

Als Saatgut, jeweils von der letzten Ernte, wurde Göttinger Roggen aus dem Pflanzenbauinstitut der Universität Göttingen, Lohmanns Winterweizen II und

[1] Auf die Wurzeln wurden besondere Hoffnungen gesetzt, weil sie sich im MOEWUSschen Kressetest (1949) als besonders geeignet für WS-Bestimmungen erwiesen haben. — In einigen Vorversuchen wurde auch die Wirkung der Extrakte auf die Frischgewichtszunahme von Wurzeln und Blättern ermittelt. Da sich hierbei ungefähr die gleichen Verhältnisse ergaben wie bei der Längenzunahme, wurde in allen folgenden Versuchen auf eine Frischgewichtsbestimmung verzichtet.

Mahndorfer Wintergerste, beide aus dem Klostergut Weende, verwandt. Alle beschädigten und kleinen Körner wurden aussortiert.

Zur Aussaat kamen bei Roggen und Weizen je 40, bei Gerste 30 entspelzte Körner in eine Petrischale (9 cm Durchmesser), die mit einem Blatt Filtrierpapier ausgelegt war. Die Körner wurden so verteilt, daß sie sich nicht berührten. Nach Benetzung (3 cm^3 Aqua dest. je Schale) kamen die Petrischalen in einen Thermostaten (25° C, auf 1,5° C konstant, relative Luftfeuchtigkeit 90—95%) in 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel. Die Beleuchtung erfolgte mit fünf 100-Watt-Birnen, die sich in einer wassergekühlten Wanne, welche im Thermostaten befestigt war, befanden; die Wandungen des Thermostaten waren zur Vermehrung des diffusen Lichtes mit weißen Tüchern ausgekleidet; Lichtintensität in der Höhe der Petrischalen 25000 Lux (mit einer Photozelle gemessen). Verpilzte Körner wurden täglich entfernt; die Verpilzung war aber nur gering. Am Ende des 3. Tages waren ungefähr 80% der ursprünglich eingelegten Körner ausgekeimt; der Rest, der noch keine Radikula erkennen ließ, wurde verworfen.

In Vorversuchen zeigte sich, daß die optimale Keimungsgeschwindigkeit und der Grad der Verpilzung stark von der zugeführten Wassermenge abhängig sind. Deshalb erhielten die einzelnen Petrischalen jeden Tag eine genau abpipettierte Menge Aqua dest.: am ersten Tag 3 cm^3 (Tag des Einlegens) und am 2. und 3. Tag je 2 cm^3. Hatten die Pflanzen die zum Testen erforderliche Größe (am 4. Tag), so wurden 5 cm^3 hinzugegeben, um Austrocknen während des Aussuchens der Pflanzen zu vermeiden. Die Flüssigkeitsmenge war so bemessen, daß die Körner weder zu feucht, noch zu trocken lagen.

Nach 3 Tagen (72 Std) wurden die Deckel der Petrischalen entfernt, weil die Pflanzen sonst dagegen gestoßen wären. Nach weiteren 12—18 Std waren die jungen Roggenpflänzchen maximal 5—6 cm lang und konnten zum Testen der Extrakte auf HS und WS benutzt werden. Die Gerste konnte nach 72 Std zum Testen verwandt werden, während der Weizen erst nach 90 Std testreif war.

Für die Herstellung der Wurzelextrakte blieben die Pflanzen noch weitere 3 Tage im Thermostaten (sie hatten dann eine durchschnittliche Länge von 10 cm) und wurden dann außerhalb des Thermostaten weiter kultiviert. Dazu wurden sie zu je 40—50 in schwarz angestrichene Glaszylinder (Höhe 11 cm, Durchmesser 5—6 cm) gestellt, wo ihre Wurzeln in Leitungswasser hingen, das täglich erneuert wurde; außerdem erfolgte mehrmaliges Abspülen der Wurzeln mit Leitungswasser. Die Glaszylinder waren mit einer Zinkscheibe verschlossen; durch eine in der Mitte befindliche Öffnung wurden die Pflanzen gesteckt und somit befestigt. Die Gefäße standen in einem während des ganzen Jahres nahezu temperaturkonstanten Nord-Arbeitsraum bei 20—22° C[1], und zwar während der Sommermonate in der Nähe des Fensters, im Winter unter einer wassergekühlten Beleuchtungsanlage. Die Pflanzen erhielten täglich 12 Std Licht und ebensolange Dunkelheit. Die Verwendung der Wurzeln zur Extraktherstellung erfolgte meist nach 10 Tagen, vom Tage der Sameneinlegung an gerechnet. Während dieser Zeit können die Pflanzen ihren Nährstoffbedarf noch aus dem im Endosperm vorhandenen Nährstoffreservoir decken; es war daher nicht nötig, sie in Nährlösung zu halten.

2. Herstellung der Extrakte.

Zur WS- und HS-Extraktion aus Pflanzenmaterial sind bereits zahlreiche Methoden bekannt (Zusammenfassung bei LINSER 1939, sowie POHL 1936, AVERY 1939, AVERY, CREIGHTON und SHALUCHA 1940, THIMANN und SKOOG 1940, OVERBECK 1941, GUSTAFSON 1941, THIMANN, SKOOG und BERGER 1942, MOWEUS 1949,

[1] Bei Bedarf wurde auch im Sommer elektrisch geheizt.

Wildman und Muir 1949 u. a.), in denen mit verschiedener Menge Alkohol, Aqua dest. und anderen Extraktionsmitteln bei variierender Zeitdauer extrahiert wird. Unter Benutzung der dabei gemachten Erfahrungen wurde die nachstehende Extraktionsmethode verwendet.

Von den 10 Tage alten Roggen-, Gersten- und Weizenpflanzen wurden die Wurzeln abgeschnitten, mehrmals in Aqua dest. abgespült und mit Filtrierpapier abgetrocknet. Anfänglich wurde versucht, die Wurzeln dann im Mörser zu quetschen; die auf diese Weise hergestellten Extrakte zeigten aber nur sehr geringe Wirksamkeit. Deshalb wurden die Wurzeln später mittels flüssiger Luft zum Gefrieren gebracht und in diesem Zustand im Mörser zerrieben. Durch die Behandlung mit flüssiger Luft trat, wie besondere Versuche zeigten, keine Verminderung des Hemmstoffgehaltes ein, es zeigte sich vielmehr eine Erhöhung gegenüber den zerquetschten Wurzeln, da die Zellen besser erschlossen wurden. Die pulverisierten Wurzeln kamen zum Trocknen sofort in einen Trockenschrank bei 80—90° bis zur Gewichtskonstanz, die meist nach 20—24 Std eintrat. Vorversuche zeigten, daß ein Extrakt, der aus frischen und getrockneten Wurzeln hergestellt worden war, die gleiche prozentuale hemmende Wirkung an Pflanzen hervorruft (76 und 78% auf das Wurzelwachstum sowie 29 und 30% auf das Blattwachstum).

Die Extrakte aus den Wurzeln wurden mit Methanol hergestellt[1], wobei anfänglich auf 10 g Frischsubstanz, später nur noch auf 965 mg Trockensubstanz 100 cm^3 Alkohol kamen. Die Pflanzenteile wurden eine Stunde am Rückflußkühler gekocht, dann abfiltriert, 50% des Alkohols überdestilliert und der Restextrakt mit Aqua dest. auf dem Wasserbad bis zur Trockne eingedampft; der Rückstand war dunkelbraun bei Roggenextrakt, hellbraun bei Gerste, während der Weizenextrakt eine Mittelfärbung hatte. Anschließend wurde mit destilliertem Wasser auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt. Um beim Eindampfen gebildete Rückstände, meist verkohlte Farbstoffe, zu entfernen, wurde nochmals abfiltriert; hierbei blieb im Filter außerdem ein brauner Rückstand, der nicht weiter untersucht wurde. Zu dem so gewonnenen Extrakt kam die gleiche Menge Pfeffersche Nährlösung. Diese so *verdünnte* Extraktflüssigkeit, in der Arbeit als *Wurzelextrakt* bezeichnet, diente als Testlösung. Die Extrakte kamen sofort, spätestens aber 12 Std nach der Herstellung zur Verwendung. War die Extraktbereitung anders, z. B. bei der Zerstörung von HS und WS, so wird sie bei der Beschreibung der einzelnen Versuche näher erläutert.

3. Testverfahren.

Aus jeder Petrischale wurden 72 bzw. 90 Std nach der Aussaat vollkommen gerade gewachsene, gleich stark entwickelte Pflänzchen von 3,4—4,0 cm Sproßlänge ausgesucht, um an ihnen die Wirkung der Extrakte auf den Zuwachs der Sprosse wie der Wurzeln zu prüfen. Dabei wurde darauf geachtet, daß die Pflanzen der einzelnen Versuchsgruppen untereinander gleiche Länge besaßen[2].

Um den Wurzelzuwachs unter der Wirkung der Extrakte zu untersuchen, wurden an den Pflanzen zunächst sämtliche vorhandenen Wurzeln abgeschnitten; während des Versuches wuchsen neue nach und am Ende eines Versuches wurde *deren* Länge gemessen[3]. Das Endosperm verblieb während der ganzen Zeit an den Pflanzen.

[1] Vgl. hierzu Versuch 1.

[2] Beim Roggen waren etwa 15% der ursprünglich eingelegten Samen zum Testen reif, bei Weizen betrug die Zahl 25%, während sie bei Gerste mit 8% außerordentlich gering war; wurden jedoch die Gerstenkörner während der ersten 8 bis 10 Std vom Einlegetermin an einer Kältebehandlung von 8° C unterworfen, so erhöhte sich auch hier die Zahl der testreifen Pflanzen auf 32% (vgl. Kinzel 1920).

[3] Vgl. hierzu Versuch 2.

Die Pflänzchen kamen einzeln in kleine, schwarz angestrichene Glaszylinder (Höhe 7,5 cm, innerer Durchmesser 1,3 cm), die mit den zu untersuchenden Extrakten gefüllt waren[1]. Die Befestigung mittels Watte in der Öffnung des Zinkdeckels geschah so, daß die Pflanzen 8 mm in die Lösung eintauchten. Da die Pflänzchen sehr vorsichtig behandelt werden mußten, damit sie nicht abbrachen, dauerte es je nach der Größe eines Versuches bis zu 8 Std, bis sämtliche Pflanzen in den Glaszylindern standen. In Vorversuchen hatte sich jedoch gezeigt, daß dieser zeitliche Unterschied ohne nennenswerten Einfluß auf den Blatt- und Wurzelzuwachs innerhalb einer bestimmten Stundenzahl nach dem Einsetzen der Pflanzen war (Schwankungen zwischen 12,48 und 12,73 cm Blattzuwachs und 3,79 gegenüber 3,86 cm Wurzelzuwachs, 72 Std nach Versuchsbeginn); es war auch einerlei, ob die Pflanzen am Ende der Licht- oder Dunkelzeit in den Versuch kamen.

Die Glaszylinderchen (20—30 je Versuch) kamen in denselben Thermostaten, in dem vorher die Pflänzchen in den Petrischalen aufgezogen worden waren und erhielten genau wie früher 12:12stündigen Beleuchtungswechsel[2].

Nach 72 Std wurden die Zylinder mit den Pflanzen aus dem Versuch genommen. Die Länge der neugebildeten Wurzeln sowie der Zuwachs des ersten und die Gesamtlänge des zweiten neugebildeten Blattes wurden durch Auflegen auf Millimeterpapier auf $^1/_{10}$ mm genau gemessen und daraus die Förderung oder Hemmung durch die Wurzelextrakte gegenüber der reinen Nährlösung ermittelt.

II. Versuchsergebnisse.

A. Extrakte aus Roggenwurzeln.

1. Hemmwirkung des Wurzelextraktes.

a) Verschiedene Extraktionsmittel.

Versuch 1. Am 9. 3. wurden je 30 Roggenpflänzchen, denen alle Wurzeln abgeschnitten worden waren, in Extrakt aus Roggenwurzeln gebracht; zur Kontrolle kamen ebenfalls je 30 Pflänzchen in extraktfreie Nährlösung. Als Extraktionsmittel zur Herstellung des Wurzelextraktes hatten Methanol, Aceton, Äthanol, Äther, Aqua dest. und Chloroform gedient, da untersucht werden sollte, ob bei verschiedenen Extraktionsmitteln Unterschiede in den Hemmwirkungen auftreten. Die Herstellung der Extrakte erfolgte, außer bei Äther und Chloroform, wie in der Methodik angegeben. Das mit Äther und Chloroform zu extrahierende Material stand 24 Std bei 25° C im Dunkeln in Äther oder Chloroform und wurde dann mit der dreifachen Menge frischem Extraktionsmittel ausgewaschen, anschließend dann abgedampft und mit Aqua dest. aufgenommen. Bei keinem der Extraktionsmittel wurde Säure zugesetzt, da nach KÖGL, HAAGEN-SMIT und ERXLEBEN (1934) Auxin säureempfindlich ist; ebenso unterblieb ein Zusatz von Alkalien, da durch alkalische Hydrolyse Auxin neu gebildet werden kann (AVERY, BERGER and WHITE 1945).

Die hemmende Wirkung war je nach dem Lösungsmittel verschieden (Tabelle 1).

Am günstigsten erwies sich Äthanol, mit Methanol war die Hemmung nur wenig geringer. Auch Aceton und Aqua dest. können noch als einigermaßen gute Lösungsmittel bezeichnet werden. Ungeeignet für die HS-Extraktion dürften Äther und besonders Chloroform sein; bei letzterem zeigte sich kaum noch eine Hemmung.

[1] Als Kontrollen dienten Zylinder mit 1:1 verdünnter PFEFFERscher Nährlösung, so daß also die Extrakt- und die Kontrollösungen außer den in den Extrakten enthaltenen Stoffen gleiche Konzentration hatten.

[2] Die Dunkelzeiten sind immer unterstrichen.

Tabelle 1. *Wirkung verschiedener Extraktionsmittel auf die Wirksamkeit des Roggenwurzelextraktes, gemessen am Zuwachs junger Roggenpflanzen.*

Versuch 1: 9. 3.—12. 3.

Extraktionsmittel	Blatt			Wurzel		
		Zuwachs cm	Hemmung %		Zuwachs cm	Hemmung %
Äthanol . .	Zuwachs der Kontrollen 11,53 ± 0,10 cm	7,03 ± 0,10*	39,1	Zuwachs der Kontrollen 3,55 ± 0,06 cm	0,52 ± 0,07	85,3
Methanol. .		7,56 ± 0,26	34,4		0,76 ± 0,05	78,5
Aceton. . .		7,68 ± 0,44	33,3		0,91 ± 0,09	74,3
Aqua dest..		8,42 ± 0,21	27,8		0,96 ± 0,10	70,0
Äther . . .		9,55 ± 0,63	17,1		2,46 ± 0,20	30,7
Chloroform .		10,27 ± 0,44	10,9		3,28 ± 0,21	7,6

* Einfacher mittlerer Fehler.

Die größte Wirkung bei der HS-Extraktion wurde also durch Äthanol erzielt[1]. *Da Extraktionen mit Äthanol auf die Dauer aber sehr kostspielig sind, mußte in allen folgenden Versuchen mit Methanol gearbeitet werden.*

b) Testpflanzen mit und ohne Endosperm und Wurzeln.

Versuch 2. Durch Entfernung der Wurzeln und vor allem des Endosperms vor Versuchsbeginn wurde der Blatt- und Wurzelzuwachs herabgesetzt (Tabelle 2).

Die Blatt- und Wurzelhemmung durch den Wurzelextrakt wurde durch Entfernung des Endosperms oder der Wurzeln aber nicht merklich beeinflußt. So war die Blatthemmung bei den Testpflanzen mit Endosperm und Wurzeln 28,5%, bei denen ohne diese Teile (d) 26,4%; bei der Wurzelhemmung waren die entsprechenden Zahlen 80,7% (a) und 80,0% (d)[2]. *Für alle folgenden Versuche wurden daher Testpflanzen verwendet, die zwar Endosperm, aber* — wegen der bequemeren Messung — *keine Wurzeln besaßen.*

c) Variation der Beleuchtungsverhältnisse.

Versuch 3. Der Versuch sollte zeigen, in welcher Weise Dauerdunkel und Dauerlicht während des Testes auf die Hemmwirkung des Extraktes von Einfluß

[1] Ähnliches hat ja auch LINSER für die WS und neuerdings TEGETHOFF für den Scutellumhemmstoff der Maiskörner festgestellt.

[2] Wie in Versuch 1 waren in allen Gruppen die Wurzeln mehr als doppelt so stark gehemmt wie die Blätter.

Tabelle 2. *Einfluß von Wurzeln und Endosperm der Roggentestpflanzen auf die Hemmwirkung durch Roggenwurzelextrakt.*

Versuch 2: 18. 3.—21. 3.

Gruppe	Endosperm	Wurzeln	Blattzuwachs			Wurzelzuwachs		
			mit Extrakt cm	Kontrolle cm	Hemmung %	mit Extrakt cm	Kontrolle cm	Hemmung %
a	+*	+	12,75 ±0,43	17,85 ±0,35	28,5	1,77 ±0,21	9,21 ±0,59	80,7
b	+	—	9,39 ±0,65	13,23 ±0,66	29,0	1,03 ±0,12	6,62 ±0,59	84,4
c	—	+	5,84 ±0,24	8,52 ±0,41	31,4	0,43 ±0,15	2,25 ±0,61	80,9
d	—	—	5,12 ±0,19	6,96 ±0,29	26,4	0,23 ±0,02	1,15 ±0,08	80,0

*+ vorhanden, — entfernt.

Tabelle 3. *Zuwachs der Blätter und Wurzeln von Roggenpflanzen mit und ohne Wurzelextrakt bei verschiedenen Belichtungsverhältnissen.*

Versuch 3: 17. 5—20. 5. und 1. 6.—4. 6.

Gruppe	Art der Behandlung der Testpflanze	Blattzuwachs			Wurzelzuwachs		
		mit Extrakt cm	Kontrolle cm	Hemmung %	mit Extrakt cm	Kontrolle cm	Hemmung %
a	Dauerdunkel	10,21 ±0,12	13,66 ±0,32	25,2	1,57 ±0,04	4,63 ±0,26	66,1
b	12:12-Rhythmus . . . . Wurzeln unverdunkelt	9,22 ±0,09	13,25 ±0,39	30,4	1,05 ±0,03	3,53 ±0,19	70,3
c	12:12-Rhythmus . . . . Wurzeln verdunkelt	9,51 ±0,08	13,42 ±0,21	29,1	1,00 ±0,02	3,43 ±0,20	70,8
d	Dauerlicht . . . . . Wurzeln unverdunkelt	11,90 ±0,18	18,31 ±0,53	35,0	1,21 ±0,09	4,84 ±0,42	75,2
e	Dauerlicht . . . . . Wurzeln verdunkelt	11,80 ±0,16	18,21 ±0,47	34,7	1,09 ±0,08	4,62 ±0,34	76,4

sind. Dazu wurden 5 Gruppen angesetzt: zwei erhielten während des Tests den üblichen 12:12-Rhythmus, wobei die Wurzeln der einen Gruppe verdunkelt (c), die der anderen unverdunkelt (b) waren; andere kamen in Dauerlicht, wobei auch hier die Wurzeln entweder Licht bekamen (d) oder verdunkelt wurden (e); außerdem erhielt eine Gruppe in allen Teilen Dauerdunkelheit (a). Die ersten 4 Gruppen standen im Thermostaten bei 25° C, die Pflanzen im Dauerdunkel jedoch bei 22° C. Jede Versuchsgruppe von 20 Pflanzen erhielt die gleiche Zahl von entsprechend angesetzten Kontrollpflanzen ohne Wurzelextrakt. Vor dem Versuch hatten alle Pflanzen wie üblich im 12:12-Licht-Dunkelwechsel gestanden.

Die Belichtung oder Verdunkelung der Wurzeln (Tabelle 3) war ohne Einfluß (b und c bzw. d und e), dagegen *nahm die hemmende Wirkung*

von den dauernd verdunkelten Pflanzen (a, 25% beim Blatt und 66% bei der Wurzel) über die 12stündige *zu den dauernd belichteten Pflanzen eindeutig zu* (e, 35 bzw. 76%)[1].

d) Abhängigkeit von der Aufbewahrungszeit des Extraktes.

Versuch 4. Frisch hergestellter Wurzelextrakt wurde luftdicht abgeschlossen in Glasflaschen bei etwa 20° C und 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel aufbewahrt und am 1., 3., 6. und 8. Tag nach seiner Herstellung getestet.

In 7 Tagen sank die hemmende Wirkung auf das Wurzelwachstum von 73% auf 40% und beim Blatt von 29% auf sogar nur 5% (Abb 1). Diese Hemmungsabnahme beruht wahrscheinlich *nicht auf Oxydationsvorgängen;* leitet man nämlich durch einen Extrakt während 24 Std fein verteilte Luft, dann ist die Hemmungsabnahme nicht größer als in dem luftdicht abgeschlossenen Extrakt.

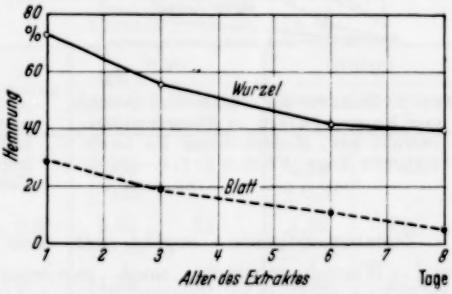


Abb. 1. Prozentuale Hemmung des Zuwachses der Blätter und Wurzeln von Roggenpflanzen durch 1—8 Tage alten Roggenwurzelextrakt. Versuch 4: 15. 5.—26. 5.

Versuch 5. Er sollte zeigen, ob die in Versuch 4 ermittelte Alterung der Extrakte sich auch im normalen Versuchsverlauf, d. h. also während der Extrakt auf die Wurzeln der Testpflanzen einwirkt, geltend macht.

Dazu kamen je 120 Extrakt- und Kontrollpflanzen in den Versuch. Nach 1, 3, 5 bis 11 Tagen wurden hiervon je 20 Pflanzen ausgewertet. Ihre Zuwachswerte sind in Abb. 2 eingetragen. Die Kurven des Zuwachses im Wurzelextrakt bleiben sehr viel niedriger als die der Kontrollen; sie lassen die Hemmung also sehr deutlich erkennen; über eine Veränderung der Hemmwirkung im Laufe der Zeit kann man jedoch aus ihnen nichts sicheres entnehmen.

Sie wird aber deutlich in Abb. 3, in der die tägliche relative Hemmung der Extraktpflanzen gegenüber den Kontrollen dargestellt ist. Der Wurzelzuwachs war nach 24 Std im Extrakt 35% geringer als bei den Kontrollen; diese Hemmung stieg bis zum 3. Tag auf 77% an. Dann ging die relative Hemmung aber ständig zurück und betrug am 11. Tag nur noch etwa 50%. Beim Blattwachstum ließ sich nach einem Tag noch keine Hemmung erkennen; diese stieg dann bis zum 7. Tag auf 37% und

[1] Aus der Tabelle geht weiter hervor, daß das Wachstum der Kontrollpflanzen im Dauerlicht und Dauerdunkel größer war, als im 12:12-Rhythmus. Die im Dauerdunkel gewachsenen Pflanzen lassen sich jedoch nicht direkt mit den beiden anderen Gruppen vergleichen, da diese bei etwas geringerer Versuchstemperatur aufgewachsen waren. Auf die Hemmwirkung des Extraktes hatte die Temperaturdifferenz von 3° C keinen Einfluß.

sank darauf auch etwas ab. Die Wurzelhemmung erreichte also am 3. Tag, die des Blattes am 7. Tag ihr Maximum.

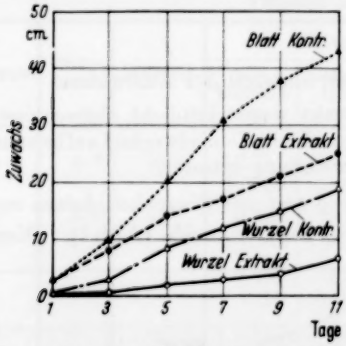


Abb. 2. Zuwachs der Blätter und Wurzeln von Roggenpflanzen in Roggenwurzelextrakt bzw. Kontrollösung im Laufe mehrerer Tage. Versuch 5: 1. 6.—12. 6.

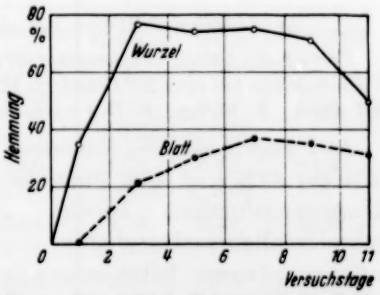


Abb. 3. Prozentuale Hemmung des Blatt- und Wurzelzuwachses von Roggenpflanzen in Roggenwurzelextrakt gegenüber extrakt freier Lösung an den aufeinanderfolgenden Versuchstagen. Versuch 5: 15. 5.—18. 5.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß *die Hemmung des Blatt- und Wurzelwachstums noch zunimmt, während die Wirkung des Wurzelextraktes schon verringert ist.*

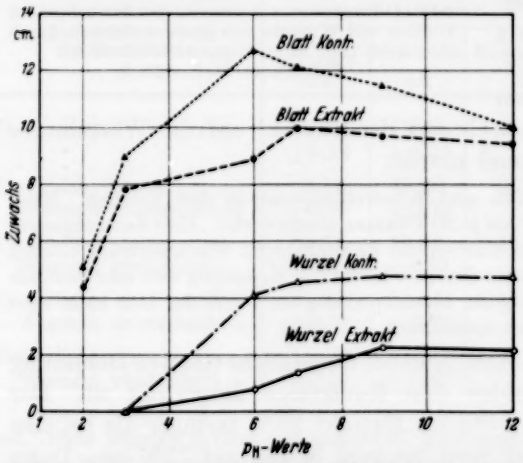


Abb. 4. Hemmung des Blatt- und Wurzelzuwachses von Roggenpflanzen in Roggenwurzelextrakt und Nährlösung (Kontrollen) bei verschiedenen p_H-Werten. Versuch 6: 9. 3.—12. 3.

e) Verschiedene p_H-Werte.

Versuch 6. Bei den bisher geschilderten Untersuchungen betrug der p_H-Wert immer 5,8. Er wurde nun auf 2, 3, 6, 7, 9 und 12 geändert (Einstellung kurz vor Versuchsbeginn mit Salzsäure und Kalilauge und Mercks Kolorimeterpapier als Indikator). Die extraktfreien Kontrollösungen wurden auf die gleichen p_H-Werte eingestellt.

Sowohl beim Blatt (obere beiden Kurven in Abb. 4) *wie bei der Wurzel* (untere beiden Kurven) *war der Zuwachs bei niedrigen p_H-Werten am geringsten* und stieg bis p_H 6 bzw. 7 stark an. Die beiden Kurvenpaare laufen aber nicht parallel, sondern jeweils die untere Kurve, die zu den im Wurzelextrakt gewachsenen und dadurch gehemmten Pflanzen gehört, steigt zunächst weniger an, was besagt, daß die *Hemmung durch den Wurzelextrakt mit zunehmendem p_H relativ stärker wurde. Im alkalischen Bereich war das dann aber nicht mehr der Fall,* sondern hier laufen

die Kurven für das Wurzelwachstum parallel, beim Blattwachstum nähern sie sich einander sogar wieder, und zwar dadurch, daß die Pflanzen im Extrakt mit zunehmendem p_H keine wesentliche Steigerung der Hemmung erfuhren, während bei den Kontrollen der Zuwachs zwischen p_H 6 und 12 ständig geringer wurde.

Sehr saure und alkalische Lösungen setzten das Wachstum herab (Abb. 4, Vergleich mit den Kontrollen), eine Tatsache, die bereits aus der Literatur bekannt ist (ZINZADZÉ). Da aber auch *die Hemmung in den extremen p_H-Bereichen abnimmt*, liegt die Vermutung nahe, daß Säuren und Alkalien den HS-Gehalt des Extraktes herabsetzen. Die Nachprüfung dieser Möglichkeit soll aber erst in einem späteren Abschnitt durchgeführt werden. Hier soll zunächst untersucht werden, *ob die Menge des von der Pflanze produzierten HS vom p_H-Wert des Außenmediums abhängig ist.*

Tabelle 4. *Hemmstoffgehalt von Roggenwurzeln nach Aufzucht in verschiedenen p_H-Lösungen.*
Versuch 7: 11. 9.—14. 9.

Nährlösung	Blatt		Wurzel	
	Zuwachs cm	Hemmung %	Zuwachs cm	Hemmung %
p_H 3	12,54 ±0,52	6,7	4,22 ±0,31	5,8
p_H 5,8	9,01 ±0,15	34,1	1,22 ±0,11	72,7
p_H 9	11,23 ±0,31	17,7	3,26 ±0,19	27,2
Kontrolle	13,66 ±0,32	—	4,48 ±0,09	—

Dazu wurde in *Versuch 7* je eine Gruppe von Pflanzen, die während der ersten 6 Tage in Aqua dest. gewachsen waren, in die übliche Nährlösung gebracht, die aber hier auf p_H 3,6 und 9 eingestellt war. In jede dieser p_H-Stufen kam eine Gruppe von 40 bis 50 Pflanzen. Nach 4 bis 5 Tagen wurden dann aus den Wurzeln dieser Pflanzen Extrakte hergestellt. Diese wurden auf den p_H-Wert 5,8 eingestellt und damit getestet.

Aus Tabelle 4 folgt, daß die *Pflanzen, die in saurer (p_H 3) und alkalischer (p_H 9) Lösung gewachsen waren, eine sehr viel geringere Hemmung zeigten als die bei p_H 5,8 aufgezogenen*; dabei war die Hemmung der bei p_H 3 aufgezogenen Pflanzen ganz besonders gering.

Die *Ergebnisse aus den Versuchen 1—7* sind folgende:

1. Extrakt aus den Roggenwurzeln rief in der angewandten Konzentration eine Hemmung an den Testpflanzen hervor.

2. Das Wurzelwachstum wurde doppelt so stark gehemmt wie das Blattwachstum.

3. Es war ohne Einfluß auf die Größe der Hemmung, ob die Testpflanzen mit oder ohne Endosperm bzw. Wurzeln in den Versuch genommen wurden.

4. In Dauerlicht zeigten die Testpflanzen eine größere Hemmung als in Dauerdunkel.

5. Äthanol war das beste Lösungsmittel für den HS, es folgten dann Methanol, Aceton und Aqua dest.

6. Wurde der p_H-Wert des Wurzelextraktes künstlich variiert, so war die Hemmung im alkalischen Bereich größer als im sauren, bei p_H 5,8 lag das Maximum.

7. Wurden die zur Extraktherstellung verwendeten Pflanzen in sauren Lösungen aufgezogen, dann zeigte der Extrakt keine Hemmwirkung mehr, in Lösungen mit p_H 5,8 war sie am größten und in alkalischen wieder verringert.

8. Die Größe der durch den Wurzelextrakt hervorgerufenen Hemmung war von der Aufbewahrungszeit des fertigen Extraktes abhängig; die Hemmung ging im Laufe weniger Tage stark zurück.

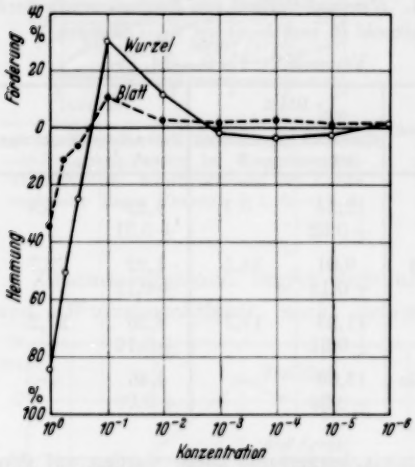


Abb. 5. Wirkung verschiedener Konzentrationen des Roggenwurzelextraktes auf den Zuwachs von Blättern und Wurzeln von Roggenpflänzchen. Versuch 8: 30. 6.—3. 7. und 11. 9.—14. 9.

9. Maximale Hemmung trat an den in Extraktlösung wachsenden Pflanzen erst ein, wenn die Wirkung des Extraktes schon verringert war.

2. Hemm- und Wuchsstoffe des Wurzelextraktes.

a) Verschiedene Konzentrationen des Wurzelextraktes.

Versuch 8. Bisher wurde der Wurzelextrakt immer nur in einer einzigen Konzentration getestet, in der er stark hemmend wirkte; sie sei als 10^0 bezeichnet. Um den Einfluß verschiedener Konzentrationen festzustellen, wurden Verdünnungen bis 10^{-6} hergestellt. In der Konzentration 10^0 haben wir die üblichen Verhältnisse, d. h. 80%ige Wurzelhemmung und etwa 30%ige Blatthemmung (Abb. 5). *Mit zunehmender Verdünnung wurde dann die Hemmung immer geringer und schon bei 10^{-1} schlug sie in Förderung des Zuwachses gegenüber den Kontrollen in extraktfreier Kultur um!* Dabei wurden die Wurzeln mehr gefördert (30%) als die Blätter (10%). Bei 10^{-2} nahm die Förderung dann wieder ab und im Bereich 10^{-3} bis 10^{-6} war überhaupt keine Wirkung des Extraktes auf das Blatt- und Wurzelwachstum mehr festzustellen.

Der gleiche Extrakt wirkte also je nach der Konzentration hemmend oder fördernd! Da vom WS bekannt ist, daß er nur in relativ niedrigen Konzentrationen fördernd, in hohen aber hemmend wirkt (THIMANN 1937, LEOPOLD und THIMANN 1949), entsteht die Frage, ob die in den vorstehenden Versuchen ermittelte hemmende Wirkung des Wurzel-

extraktes überhaupt durch einen eigentlichen HS und nicht vielleicht einfach durch hohe Konzentrationen von WS hervorgerufen wird. Dieser Gedanke liegt auch deshalb noch besonders nahe, weil die Wurzeln in den Versuchen immer viel stärker gehemmt wurden als die Blätter, was mit ihrer größeren Empfindlichkeit gegen höhere WS-Gaben zusammenhängen könnte.

Aufgabe der nächsten Versuche war daher, zu klären, ob nur ein oder mehrere Stoffe in dem Wurzelextrakt enthalten sind.

b) Behandlung des Roggenwurzelextraktes mit verschiedenen Chemikalien.

α) *H_2O_2-Behandlung.* In der Literatur sind zahlreiche Angaben zu finden, wonach sowohl WS als auch HS durch H_2O_2 zerstört werden (Voss 1939, Funke 1943, v. Guttenberg und Lehle-Joerges 1948, Funke und Söding 1948, Meyer 1950 und Baumeister 1951). Falls die Förderung des Wachstums durch die stärkeren Verdünnungen des Wurzelextraktes in Versuch 8 (Abb. 5) durch Auxin a (dessen Existenz noch nicht als gesichert angesehen werden darf) oder β-Indolylessigsäure (IES)[1] bedingt war, müßte sie nach Behandlung des Extraktes mit H_2O_2 unterbleiben (Funke und Söding 1948, Meyer 1950 u. a.).

Versuch 9. 100 cm³ Wurzelextrakt wurden eingedampft und dann mit bis zu 20 cm³ H_2O_2 versetzt. Nach einer Einwirkungszeit von 1 oder 2 Std erfolgte dann auf dem Wasserbad wieder das Eindampfen des Extraktes bis zur Trockne; er wurde dann noch 2—3mal erneut mit 20 cm³ Aqua dest. versetzt und wieder eingedampft. Anschließend wurden dann 100 cm³ destilliertes Wasser zugegeben und in der üblichen Weise getestet. Der sonst hellbraune Extrakt hatte nun hellgelbe Farbe.

Es zeigte sich, daß die H_2O_2-Behandlung überhaupt keine Änderung in der Wirkungsweise des Extraktes in den verschiedenen Konzentrationen herbeiführte (Tabelle 5). Der Kurvenverlauf in den verschiedenen

Tabelle 5. *Wirkung des Roggenwurzelextraktes nach der H_2O_2-Behandlung auf Roggenpflänzchen.*

Versuch 9: 13. 3.—16. 3. und 6. 3.—9. 3.

	Blatt		Wurzel	
	Zuwachs cm	Hemmung %	Zuwachs cm	Hemmung %
Wurzelextrakt	8,29 ±0,20	28,7	1,07 ±0,08	77,1
H_2O_2-Behandlung. . .	8,31 ±0,13	28,4	1,10 ±0,07	76,4
Kontrolle	11,62 ±0,32	—	4,67 ±0,29	—

[1] In der Literatur sind die Angaben über die Wirkung einer H_2O_2-Behandlung auf die IES nicht immer ganz eindeutig. Nach Funke und Söding (1948) und Meyer (1950) wird durch H_2O_2 die IES zum Teil zerstört, nach Baumeister (1951) soll sie aber meistens beständig und der Grad einer eventuellen Zerstörung von ihrer Konzentration abhängig sein.

Konzentrationen entsprach der der Abb. 5, auf seine Wiedergabe kann daher verzichtet werden. An der Förderung des Wachstums durch den Roggenwurzelextrakt kann also *Auxin a nicht beteiligt* sein.

β) Salzsäurebehandlung. Nachdem es in Versuch 9 nicht gelungen war, die WS-Wirkung durch ein Oxydationsmittel zu beseitigen, schien eine HCl-Behandlung des Wurzelextraktes besonders geeignet, eine Analyse des Stoffgemisches herbeizuführen. In der Literatur liegen zahlreiche Angaben vor, wonach durch Säurebehandlung sowohl IES (ERXLEBEN 1935, MEYER 1950, TEGETHOFF 1951 und BAUMEISTER 1951) als auch gewisse HS (MEYER 1950 und BAUMEISTER 1951) zerstört werden.

Versuch 10. 100 cm³ Wurzelextrakt wurden eingedampft, mit der gleichen Menge n/1 HCl aufgenommen und 3 Std am Rückflußkühler gekocht (KÖGL, HAAGEN-SMIT und ERXLEBEN 1934). Um die Gewißheit zu haben, daß sämtliche Salzsäure entfernt war, wurde 3—4mal mit Aqua dest. versetzt und eingedampft; schließlich wurde auf 100 cm³ mit Aqua dest. aufgefüllt. Als Neutralisationsflüssigkeit diente Kalilauge, die tropfenweise bis p_H 5,8 (geprüft mit Mercks Kolorimeterpapier) zugegeben wurde.

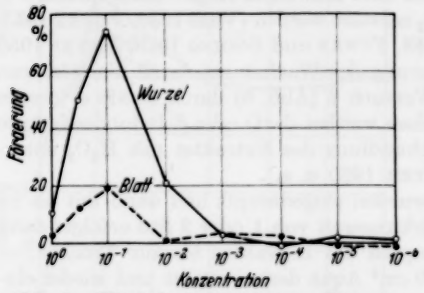


Abb. 6. Wachstum von jungen Roggenpflänzchen in verschiedenen Verdünnungen von Roggenwurzelextrakt, der mit Salzsäure behandelt worden war. Versuch 10: 25. 9.—28. 9. und 20. 10.—23. 10.

Die Wirkung des stufenweise verdünnten Extraktes gibt Abb. 6 wieder. Jetzt trat selbst bei der stärksten Konzentration (10^0) keine Hemmung mehr auf! Vielmehr war beim Wurzelwachstum schon bei dieser hohen Konzentration eine, wenn auch geringe Förderung festzustellen. Sie nahm bei weiterer Verdünnung stark zu und erreichte beim Wurzel- wie beim Blattzuwachs ihr Maximum bei 10^{-1}.

Durch die HCl-Behandlung ist also nicht nur die in hohen Konzentrationen des Wurzelextraktes auftretende *Hemmung völlig beseitigt worden*, sondern auch die bei der Verdünnung 10^{-1} auftretende Förderung (vgl. Abb. 5) war wesentlich erhöht.

Nach der oben zitierten Literatur soll durch HCl-Behandlung sämtliche IES zerstört werden, so daß die Wachstumsförderung offenbar nur durch einen aktivierten WS erfolgt sein kann. Bereits FUNKE und SÖDING (1949) konnten nachweisen, daß der inaktive Wuchsstoff (iWS) durch Hydrolyse mit HCl WS bildet, und neuerdings haben BAUMEISTER (1951) und TEGETHOFF (1951) diese Tatsache bestätigt. Nimmt man an, daß die im obigen Versuch erzielte starke Wachstumsförderung ebenfalls durch den aus der Hydrolyse des iWS gebildeten WS hervorgerufen worden ist, so ist es doch wenig wahrscheinlich, daß die gesamte Hemmung in Abb. 5 durch den iWS bedingt worden ist. Wir werden auf dieses Problem gleich noch zurückkommen.

γ) Alkalienbehandlung. Versuch 11. Um die Beständigkeit der in dem Wurzelextrakt vorkommenden WS und HS gegen Alkalien zu prüfen, wurde der Extrakt mit NH_4OH behandelt. Die Methodik der Extraktherstellung war die gleiche wie im vorigen Versuch, nur wurde an Stelle von Salzsäure NH_4OH und als Neutralisationsmittel HCl verwendet [1].

In dem mit Lauge behandelten Extrakt war das Wurzelwachstum gegenüber den Kontrollen in der Konzentration 10^0 um 58% gehemmt (Abb. 7) und bei 10^{-1} um den sehr hohen Betrag von 74% gefördert. Ein ähnliches Bild zeigt auch das Blattwachstum, aber die Ausschläge waren geringer. Bei den höheren Verdünnungen ließen sich, wie zu erwarten, weder beim Wurzel- noch beim Blattwachstum Förderungen oder Hemmungen erkennen.

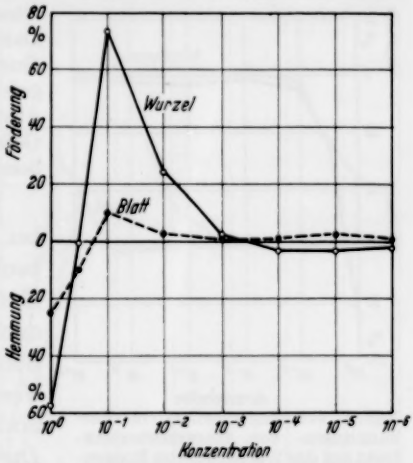


Abb. 7. Wirkung verschiedener Verdünnungen von Roggenwurzelextrakt auf das Wachstum von jungen Roggenpflanzen nach Behandlung des Extraktes mit NH_4OH. Versuch 11: 20. 10.—23. 10. und 21. 11.—24. 11.

Nun wird aber durch Alkalien die IES im Gegensatz zu Säuren nicht zerstört (Erxleben 1935, v. Guttenberg und Lehle-Joerges 1948 u. a.). Da aber die Förderung durch Laugen- und Säurebehandlung gleich stark ist (vgl. Versuch 10 und 11), kann offenbar nur eine kleinere Menge des iWS hydrolysiert worden sein.

c) Behandlung mit ultraviolettem Licht.

Versuch 12. In Versuch 10 ist es gelungen, den HS auszuschalten; in diesem Versuch *soll versucht werden, den WS zu zerstören, ohne gleichzeitig auch den HS unwirksam zu machen.* In der Literatur liegen einige Angaben vor, nach denen eine Trennung dieser beiden Stoffe möglich ist. So hat Linser (1940/41) versucht, auf chemischem Wege durch Ausschütteln der Alkoholextrakte mit Äther zum Ziel zu kommen; die Methode versagte aber bei seinen eigenen Untersuchungen in mehreren Fällen. Reed und Bonner (1948) ist es gelungen, einen HS durch Auskristallisation zu gewinnen; das Verfahren ist aber sehr umständlich und die Ausbeute an Kristallen äußerst gering. Eine andere Möglichkeit besteht in der auf Diffusion beruhenden Wentschen Agarabfangmethode (Goodwin 1939, Larsen 1939/40, Boysen-Jensen 1940/41, Hemberg 1947, Kramer und Went 1949); doch auch hier ist die Ausbeute sehr gering. Die erfolgreiche Trennung durch Kataphorese, die Tegethoff (1951) veröffentlicht hat, ist erst nach Abschluß des experimentellen Teils dieser Arbeit publiziert worden; sie konnte daher nicht mehr benutzt werden, und Twetts (1906) Adsorptionsmethode, mit Stärke durchgeführt, führte bei einigen tastenden Versuchen nicht zum Ziel.

[1] Auch $Ca(OH)_2$ erwies sich als brauchbar, wurde aber nur gelegentlich verwendet.

Es wurde deshalb zur Behandlung mit ultraviolettem Licht übergegangen. Untersuchungen von ZIMMERMANN und HITCHCOCK (1935) sowie HITCHCOCK (1935) haben gezeigt, daß die Wirkung der 3n-Indol-Propionsäure durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht verringert, ja sogar aufgehoben wird. Außerdem ist bekannt, daß sich das Wachstum von Pflanzen, die kurze Ultraviolettbestrahlung erhalten haben, gegenüber unbehandelten verringert (SINGH, KAPOOR und CHONDHRI 1936) und aus unveröffentlichten Versuchen von DENFFERS geht hervor, daß der Auxingehalt lebender Pflanzen durch Ultraviolettbestrahlung verringert wird. Es schien daher lohnend, zu untersuchen, inwieweit der WS in einem Wurzelextrakt durch ultraviolettes Licht zerstört werden kann. Dazu wurde der Wurzelextrakt mit einer Quecksilber-Quarzlampe (S 700, Quarzlampengesellschaft G.m.b.H., Hanau) aus 20—25 cm Abstand in einem möglichst großen, offenen Gefäß von oben unter ständigem Schütteln bestrahlt.

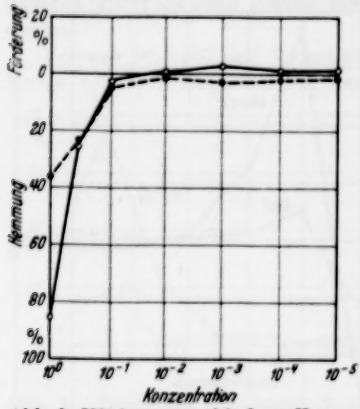


Abb. 8. Wirkung verschiedener Verdünnungen von Roggenwurzelextrakt auf das Wachstum von Roggenpflänzchen nach Bestrahlung des Extraktes mit ultraviolettem Licht. —— Blatt; — — Wurzel. Versuch 12: 21. 10.—24. 10. und 30. 11.—3. 12.

Die bei der vollen Konzentration (10^{0}) bei den bisherigen Versuchen immer beobachtete hemmende Wirkung des Extraktes auf die Testpflanzen war auch nach der Ultraviolettbestrahlung noch vorhanden (Abb. 8), in den höheren Verdünnungen konnte weder Hemmung noch Förderung festgestellt werden. *Durch die Ultraviolettbestrahlung ist es also gelungen, sämtlichen WS aus Roggenwurzelextrakten zu beseitigen, so daß nur noch der HS vorhanden war.* Letzterer wurde offenbar durch das ultraviolette Licht überhaupt nicht beeinflußt, denn die Hemmung betrug wie in Versuch 8 mit unbehandeltem Wurzelextrakt 80%. Wichtig ist die Feststellung, daß bei 10^{-1} der HS schon nicht mehr hemmend wirkte, denn es wird sich unten noch zeigen, daß diese Konzentration dennoch in der Lage ist, WS zu inaktivieren.

Wie aus Versuch 9 (H_2O_2-Behandlung) hervorgegangen ist, kann der durch das ultraviolette Licht zerstörte WS kein Auxin a sein. Wäre er aber IES, dann müßten auch künstlich hergestellte IES-Lösungen durch ultraviolettes Licht zerstört werden. Um das festzustellen, wurden in *Versuch 13* IES-Lösungen in der Konzentration 10^{-4} bis 10^{-8} jeweils eine Stunde mit der Quecksilber-Quarzlampe bestrahlt. Die farblose Ausgangslösung wurde dabei gelb, eine Beobachtung, die auch schon HARE und KERSTEN (1937) bei der 3n-Indol-Propionsäure bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht gemacht haben.

Die unbestrahlte IES-Lösung ergab bei 10^{-4} die größte Hemmung auf das Wurzelwachstum und bei 10^{-6} die größte Förderung (Abb. 9). Durch die Bestrahlung änderte sich das Bild recht erheblich. Bei der

höchsten Konzentration war zwar auch jetzt noch eine starke Hemmung vorhanden, aber schon bei 10^{-5} wurde eine Förderung erzielt, während die unbestrahlte Lösung hier noch eine Hemmung von mehr als 10% zeigte; der Unterschied in der Wirkung betrug bei dieser Konzentration 45%. Bei 10^{-6} ergab die unbestrahlte Lösung Förderung des Wachstums um mehr als 60%, die Kurve der bestrahlten Lösung war dagegen bereits wieder auf Null abgesunken, so daß hier der Wirkungsunterschied zwischen der bestrahlten und der unbestrahlten Lösung mehr als 60% betrug. Das ultraviolette Licht muß also einen erheblichen Teil der IES zerstört haben.

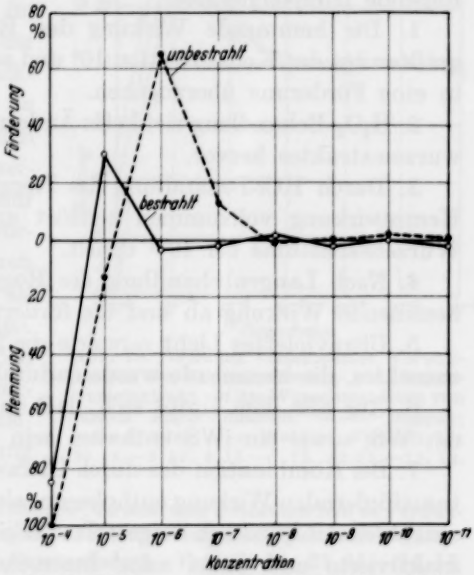


Abb. 9. Wirkung der mit ultraviolettem Licht bestrahlten und nicht bestrahlten IES in verschiedenen Verdünnungen auf das Wachstum der Wurzel von Roggenpflanzen. Versuch 13: 13. 12.—16. 12.

Die Geringfügigkeit der Abnahme der Hemmwirkung durch die Bestrahlung bei 10^{-4} beruht sehr wahrscheinlich darauf, daß die IES hier in einer überstarken Dosis vorlag, deren hemmender Einfluß im unbestrahlten Zustand so groß war, daß die Wirkung des ultravioletten Lichtes sich nicht sehr stark ausprägen konnte[1].

Die Wirkung der IES läßt sich also durch ultraviolettes Licht zerstören. Da auch der Wurzelextrakt durch Bestrahlung seine Wirksamkeit verlor, ist also sehr wahrscheinlich, daß auch *im unbehandelten Wurzelextrakt IES enthalten ist.*

d) Kombination von Hemm- und Wuchsstoff.

Versuch 14. In ihm sollte geprüft werden, wie sich der HS der Roggenwurzeln zur IES verhält. Deshalb wurden ähnlich wie in Pohls und Tegethoffs Versuchen HS und künstliche IES miteinander kombiniert. Die HS-Lösung wurde in der Weise hergestellt, daß durch ultraviolettes Licht sämtliche Förderung hervorrufenden Stoffe im Wurzelextrakt zerstört wurden. Die stärkste Konzentration des Wurzelextraktes wurde mit IES-Lösungen in den Konzentrationen 10^{-4} bis 10^{-10} versetzt, jedoch so, daß keine Verdünnung der Lösung eintrat.

Es zeigte sich, daß der *HS den WS inaktiviert, wobei seine Hemmwirkung herabgesetzt wurde.* Der HS des Wurzelextraktes vermochte

[1] Wurde während der Bestrahlung etwas aktive Kohle zugegeben, dann verminderte sich die Hemmung bei 10^{-4} auf 10%.

noch in der Verdünnung 10^{-1}, in der er selbst nicht mehr hemmend wirkt, WS zu inaktivieren.

Auf eine Wiedergabe der Tabelle kann verzichtet werden, da die Ergebnisse ähnlich wie bei den entsprechenden Versuchen von POHL und TEGETHOFF (1949) sowie TEGETHOFF (1951) waren.

Überblicken wir noch einmal die Versuche 8—14, so finden wir in ihnen folgende *Hauptergebnisse:*

1. Die hemmende Wirkung des Roggenwurzelextraktes war am größten bei der Konzentration 10^0 und sank dann ab, um schon bei 10^{-1} in eine Förderung überzugehen.

2. H_2O_2-Behandlung rief keine Änderung in der Wirkung des Roggenwurzelextraktes hervor.

3. Durch HCl-Behandlung des Roggenwurzelextraktes wurde seine Hemmwirkung vollkommen zerstört und eine starke Förderung des Wurzelwachstums bei 10^{-1} erzielt.

4. Nach Laugenbehandlung des Roggenwurzelextraktes nahm seine hemmende Wirkung ab und die fördernde bei 10^{-1} zu.

5. Ultraviolettes Licht zerstörte die fördernde Wirkung des Wurzelextraktes, die hemmende wurde dadurch hingegen nicht beeinflußt.

6. Aus alle dem ergibt sich, daß im Roggenwurzelextrakt ein HS, ein WS, sowie ein iWS enthalten sein müssen.

7. Bei Kombination des durch Ultraviolettbestrahlung seiner wachstumsfördernden Wirkung enthobenen, also nur noch hemmenden Wurzelextraktes mit künstlich hergestellter IES zeigte sich, daß der HS den WS inaktivierte und dabei seine hemmende Wirkung entsprechend der WS-Konzentration verlor.

B. Extrakte aus Gersten- und Weizenwurzeln.

1. Verschiedene Konzentrationen.

Versuch 15. In ihm wurden außer Roggen- auch Gersten- und Weizenwurzelextrakte zur Wirkung gebracht, und zwar wie bei allen bisherigen Versuchen auf junge Roggenpflanzen (Wurzelzuwachs) und zudem in verschiedenen Konzentrationen. Aus Abb. 10 ersieht man, daß die *hemmende Wirkung* des Wurzelextraktes der beiden hier erstmalig verwendeten Gramineen *geringer* als die des Roggens (bei der Ausgangskonzentration bei Gerste 44%, bei Weizen 32% gegenüber 80% bei Roggen) und die bei Verdünnung zu beobachtende Förderung größer war (bei 10^{-1} Roggen 30%, Gerste 36%, Weizen 47%).

Vermutlich ist der HS-Gehalt der Gersten- und Weizenpflanzen geringer als der von Roggenpflanzen, so daß dadurch weniger WS inaktiviert werden kann und so eine stärkere Förderung bei 10^{-1} resultiert; der Gehalt an WS ist demnach größer.

2. Behandlung des Gersten- und Weizenextraktes mit ultraviolettem Licht.

Versuch 16. Bei einstündiger Bestrahlung des Gersten-, Weizen- und Roggenwurzelextraktes in der Konzentration 10^0 mit einer Bogenlampe bzw. einer Quecksilber-Quarzlampe ergaben sich die in Tabelle 6 zusammengestellten Zahlen. Beim Roggenwurzelextrakt wurde dadurch wie in Versuch 12 die im unbehandelten Extrakt bei der Verdünnung 10^{-1} immer beobachtete Wachstumsförderung, wie zu erwarten, aufgehoben, bei den Gersten- und den Weizenwurzelextrakten wurde sie aber nur teilweise zerstört, wobei, wie vorauszusehen, die Beseitigung durch die Bogenlampe geringer war als durch die Quecksilber-Quarzlampe. Besonders stark war noch nach den Bestrahlungen die wachstumsfördernde Wirkung des Weizenwurzelextraktes (35 bzw. 27% Förderung

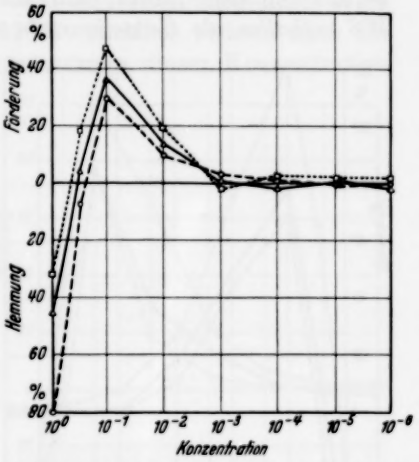


Abb. 10. Wirkung verschiedener Verdünnungen von Roggen-, Gersten- und Weizenwurzelextrakt auf das Wurzelwachstum von jungen Roggenpflanzen. — — — Roggen; ——— Gerste; ···· Weizen. Versuch 15: 30.11.—3.12., 4.12.—7.12., 12.12.—15.12.

Tabelle 6. *Wirkung von Extrakten aus Roggen-, Gersten- und Weizenwurzeln in Verdünnung 10^{-1} nach 1stündiger Bestrahlung mit einer Bogenlampe bzw. Quecksilber-Quarzlampe auf den Zuwachs von jungen Roggenpflanzen.* Versuch 16: 21.11.—24.11.

Extrakte	Blatt		Wurzel	
	Zuwachs cm	Hemmung Förderung %	Zuwachs cm	Hemmung Förderung %
Roggen B* . . .	11,21 ± 0,29	— 9,0	3,75 ± 0,16	± 0
Gerste B.	13,84 ± 0,41	+ 12,1	4,85 ± 0,24	+ 28,9
Weizen B	14,08 ± 0,38	+ 14,1	5,08 ± 0,18	+ 35,1
Roggen Qu. . . .	11,75 ± 0,28	— 4,7	3,84 ± 0,20	+ 2,1
Gerste Qu	12,98 ± 0,33	+ 5,2	3,72 ± 0,19	— 1,1
Weizen Qu. . . .	13,57 ± 0,39	+ 9,9	4,78 ± 0,16	+ 27,1
Kontrolle.	12,34 ± 0,23	—	3,76 ± 0,12	—

* B Bogenlampe; Qu Quecksilber-Quarzlampe.

des Wurzelwachstums nach der Behandlung mit der Bogenlampe bzw. Quecksilber-Quarzlampe gegenüber 29 und —1% durch Gerstenextrakt sowie 0 und 2% durch Roggenextrakt). Dieses unterschiedliche Verhalten beruht offenbar darauf, daß die Extrakte aus *Weizenwurzeln mehr WS enthalten als Gerstenwurzeln und diese wiederum mehr als Roggenwurzeln*, ein Ergebnis, das auch schon aus Versuch 15 zu folgern war.

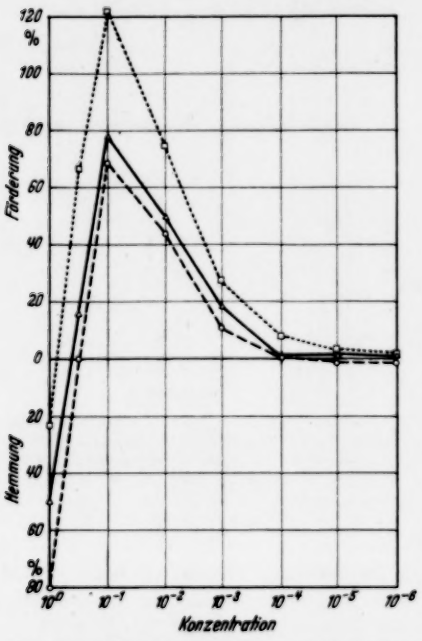


Abb. 11. Wirkung des Gersten-, Roggen- und Weizenwurzelextraktes in verschiedenen Verdünnungen auf das Wurzelwachstum von Weizenpflanzen. — — — Roggen; —— Gerste; - - - - Weizen. Versuch 18: 15. 10.—18. 10. und 12. 12.—15. 12.

C. Gerste und Weizen als Testpflanzen.

1. Weizen.

Versuch 17. Bringt man Weizenpflanzen in Gersten-, Weizen- und Roggenwurzelextrakte verschiedener Verdünnungen, dann ergeben sich die Kurven der Abb. 11. Wieder rief der Roggenextrakt die größte Hemmung mit etwa 80% hervor, es folgt der Gerstenextrakt mit 52%, und der Weizenextrakt hatte mit nur 25% die geringste Wirkung. Bei der Verdünnung 10^{-1} zeigen alle drei Kurven Förderungswerte, wobei die Reihenfolge der Arten keine Änderung erfahren hat; die Förderung stieg auf den sehr hohen Wert von 123% (Gerste 76%, Roggen 68%). Bei 10^{-2} und 10^{-3} nahm die Förderung wieder ab und bei 10^{-4} hatte das Wachstum den gleichen Wert wie in den extraktfrei gezogenen Kontrollen. *Der Weizenextrakt löste also die geringste Hemmung und größte Förderung, der Roggenextrakt hingegen größte Hemmung und geringste Förderung bei Weizentestpflanzen aus.* Beim Blattwachstum lagen die Verhältnisse ähnlich, jedoch sind diese Werte der Übersicht halber nicht in die Abbildung eingetragen worden. Vergleichen wir hiermit die von den gleichen Extrakten bei der Konzentration 10^0 an den Roggenwurzeln hervorgerufene Hemmung (Abb. 10), so zeigt sich, daß die Wirkung des Roggenextraktes hier wie dort die gleiche war und auch die Hemmungen durch die Weizen- und Gerstenextrakte differieren nur um etwa 10%; anders in der Konzentration 10^{-1}. Zwar riefen die verschiedenen

Extrakte bei den Wurzeln der Weizen- und Roggentestpflanzen relativ die gleiche Förderung hervor, in quantitativer Hinsicht lagen die Verhältnisse jedoch anders. Während der Weizenwurzelextrakt bei den Roggentestpflanzen eine Förderung von etwa 48% hervorrief, stieg dieser Wert bei den Weizentestpflanzen auf über 120%. Ähnlich wirkten auch die Extrakte aus den Gersten- und Roggenwurzeln dieser Konzentration auf die Weizenpflanzen; bei ihnen erhöhte sich die Förderung von etwa 30 auf 70% bzw. 35 auf 80%.

Die Weizenpflanzen reagierten also auf den WS der Wurzelextrakte viel empfindlicher als die Roggenpflanzen. Offenbar rührt das daher, daß die Weizenpflanzen, wie schon gezeigt wurde, weniger HS besitzen, der den aufgenommenen WS inaktivieren könnte.

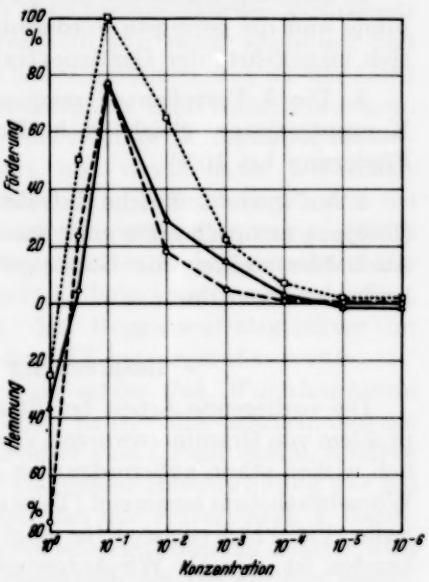


Abb. 12. Wirkung des Gersten-, Roggen- und Weizenwurzelextraktes in verschiedenen Verdünnungen auf das Wachstum von Gerstenwurzeln. — — — Roggen; —— Gerste; - - - - Weizen. Versuch 18: 25. 11.—28. 11. und 8. 12.—11. 12.

2. Gerste.

Versuch 18. Abb. 12 zeigt das Ergebnis, das beim Testen der verschiedenen Extrakte (Roggen, Weizen, Gerste) in den Konzentrationen 10^0 bis 10^{-6} an Gerstenwurzeln erhalten wurde. Auch bei der Gerste rief der Extrakt aus den Weizenwurzeln die geringste Hemmung und größte Förderung hervor.

Aus dem Vergleich der Abb. 9, 11 und 12 untereinander ergibt sich, daß die Förderung bei 10^{-1} durch die drei Extrakte bei den Roggentestpflanzen am geringsten und bei den Weizentestpflanzen am größten war; der Extrakt des Weizens ergab stets die größte, der des Roggens die geringste Förderung, der der Gerste nahm überall eine Mittelstellung ein. In der Konzentration 10^0 ergibt sich bei allen drei Testpflanzen ungefähr das gleiche Bild.

Roggen-, Gersten- und Weizenpflanzen reagierten also auf gleiche Extrakte unterschiedlich, wenn auch nur quantitativ. Die Hemmung hemmstoffreicher Pflanzen (Roggen) war bei Extrakten aus solchen am größten, die Förderung jedoch am geringsten; wuchsstoffreiche Pflanzen (Weizen) verhielten sich genau umgekehrt.

Aus den *Versuchen 16, 17 und 18* kann *zusammenfassend* hervorgehoben werden:

1. Durch Behandlung der Roggen-, Gersten- und Weizenwurzelextrakte mit ultraviolettem Licht wurde mit Ausnahme von Weizen der WS-Gehalt im Extrakt vollständig zerstört.

2. Der Roggenextrakt rief bei allen Testpflanzen die stärkste Hemmung und die geringste Förderung hervor, der Weizenextrakt verhielt sich umgekehrt; der Gerstenextrakt nahm eine Mittelstellung ein.

3. Die 3 Testpflanzen reagierten qualitativ in allen untersuchten Konzentrationen gleich (d. h. Hemmung bei der Konzentration 10^0, Förderung bei 10^{-1}).

4. Auf wuchsstoffreiche Extrakte reagierten hemmstoffreiche Pflanzen (Roggen) am geringsten und wuchsstoffreiche am stärksten (Weizen). Auch hier stellten die Gerstenpflanzen den Übergang zwischen den beiden anderen dar.

Besprechung der Ergebnisse.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem Hemmstoff-Wuchsstoffproblem von Gramineenwurzeln (Roggen, Gerste und Weizen). Bekanntlich wirken schon außerordentlich geringe WS-Konzentrationen auf das Wurzelwachstum hemmend (Thimann 1937, Amlong 1938). v. Guttenberg (1949) hält es daher für möglich, daß in den Wurzeln kein HS vorhanden ist, der als WS-Antagonist wirken könnte, sondern nur WS. Aus der vorliegenden Arbeit geht aber hervor, daß auch in den Wurzeln ein HS existiert. Da aus zahlreichen anderen Arbeiten bekannt ist, daß auch in Sproß, Samen und Früchten derartige Stoffe vorkommen (Voss 1939, Funke 1943, Funke und Söding 1948 u. a.), wird also das Wachstum der ganzen Pflanze durch HS und WS geregelt.

Wie schon Linser (1939) für WS und Funke (1943), Funke und Söding (1948) und Tegethoff (1951) für HS zeigen konnten, ließ sich auch der Wurzel-HS am besten mit *Äthylalkohol* extrahieren, und er erwies sich auch gegen H_2O_2 und *Hitze* resistent. Er behielt seine *Wirksamkeit* aber nicht über mehrere Tage. Ein solches Altern hat neuerdings auch Tegethoff (1951) an kataphoretisch gewonnenem reinem HS aus Maiscutellum festgestellt; Tegethoffs HS war aber beständig, wenn er durch Extraktionsmittel (Äthylalkohol) gewonnen und bei 4° C aufbewahrt wurde, wobei wahrscheinlich durch die tiefe Temperatur eine vermutlich enzymatische Zerstörung unterblieb. In den vorstehenden eigenen Versuchen wurde der Wurzelextrakt bei 20—22° C aufbewahrt, so daß sich nichts darüber sagen läßt, ob sich der HS aus der Wurzel bei niedriger Temperatur auch als besser haltbar erwiesen hätte. Aus

Versuch 4 geht aber hervor, daß der Alterungsprozeß durch Sauerstoff nicht beschleunigt wird[1].

Der extrahierte HS wirkte auf die Testpflanzen besonders stark, wenn diese im *Dauerlicht* standen. Im *Dauerdunkel* war die erhaltene Hemmung geringer. Diese Wirkung könnte sowohl auf einem veränderten WS- wie HS-Gehalt beruhen. Aus den Untersuchungen von AVERY, BURKHOLDER und CREIGHTON (1937) geht hervor, daß der WS-Gehalt in Sproßspitzen von *Nicotiana* im Dunkeln sehr rasch abnimmt, und v. GUTTENBERG und SEGELITZ (1938) haben gefunden, daß die am Licht ergrünenden Wurzeln von *Zea Mays* eine erhöhte WS-Produktion zeigen. Vermehrter WS-Gehalt (Licht) würde eine verringerte Hemmung hervorrufen, da der HS den WS inaktiviert, und verminderter WS-Gehalt (Dunkelheit) eine vergrößerte Hemmung. Im Versuch ergab sich bei Dauerdunkel geringste und bei Dauerlicht größte Hemmung. Wenn man annimmt, daß die bei *Nicotiana* und *Zea Mays* gemachten Beobachtungen auch für *Secale cereale* gelten, dann könnte man schließen, daß die veränderte Hemmwirkung des Roggenwurzelextraktes im Dauerlicht und Dauerdunkel durch den HS hervorgerufen wurde.

Der HS des Roggenwurzelextraktes setzte das *Wurzelwachstum* doppelt so stark herab wie das der *Blätter*. Es ist daher möglich, daß die Wurzeln nicht nur gegen WS empfindlicher sind als der Sproß, sondern auch gegen HS. Auch der Zeitpunkt maximaler Hemmwirkung war bei den Blättern und Wurzeln verschieden (bei der Wurzel nach 4 Tagen, beim Sproß nach 6 Tagen). Diese verspätete Reaktion der Blätter wird verständlich, wenn man sich auch hinsichtlich des HS auf den Standpunkt stellt, den GEIGER-HUBER und SUTTER (1943) hinsichtlich des WS einnehmen; auf Grund ihrer Versuche sind sie zu dem Ergebnis gekommen, daß die Aufnahme der IES durch Gurkenhypokotyle wahrscheinlich ein reiner Diffusionsprozeß ist. Der HS aus der Wurzel muß ja aber, ehe er das Blattwachstum in der Pflanze verringern kann, von der Wurzel bis zur Streckungszone des Primär- und Sekundärblattes wandern. Es soll jedoch nicht behauptet werden, daß die zeitlichen Aufeinanderfolgen ausschließlich auf solchen Diffusionsgründen beruhen.

VOSS (1939/40) hat dem *Endosperm* eine wichtige Rolle für die Bildung des HS zugeschrieben. Nach Entfernung des Endosperms beobachtete er eine Hemmung des Wurzelwachstums der Keimlinge, und er meint, daß dieser Effekt auf HS-Mangel zurückzuführen sei; HS soll im Endosperm reichlich vorhanden sein, in die Wurzel wandern und hier den vorhandenen WS zum Teil inaktivieren, wodurch für die Wurzel bei

[1] Das ist insofern von Interesse, als HEMBERG (1947) die Umwandlung eines neutralen WS aus Kartoffeln in einen sauren durch Oxydation ermittelt hat. LARSEN (1939/40) hat gezeigt, daß dafür Dehydrasen verantwortlich sind. Etwas ähnliches könnte natürlich auch mit dem HS aus der Wurzel geschehen.

ihrer hohen Empfindlichkeit gegen höhere WS-Konzentrationen erst Wachstum möglich wird. Bei Fehlen des HS muß dann natürlich eine Hemmung des Wurzelwachstums resultieren. In den vorstehend besprochenen Versuchen konnte aber keine Bestätigung für die Vossschen Vorstellungen gefunden werden; das Nährgewebe im Samen der jungen Testpflanzen erwies sich als wirkungslos auf den Grad der Hemmung in den Wurzeln. Wahrscheinlich lag bei den Vossschen Versuchen Nährstoffmangel vor, denn die Hemmung unterblieb im Licht und v. Guttenberg und Segelitz (1938) konnten beim Mais unter ähnlichen Bedingungen durch Zuckerzufuhr Wachstumsförderung erzielen. Eine Entfernung des Endosperms machte sich in unseren Versuchen zwar auch durch verringertes Wachstum der Roggenpflanzen bemerkbar, doch war diese auf die Größe der Hemmung ohne Einfluß (s. Versuch 2). Sehr wahrscheinlich war schon ein großer Teil des HS und WS in die Pflanze diffundiert, da das Endosperm erst nach einigen Tagen entfernt wurde.

An der großen Bedeutung des Endosperms für das Wachstum kann aber trotzdem kein Zweifel herrschen, denn nach den Untersuchungen von Funke und Söding (1948) sowie Tegethoff (1951) soll der Endosperm-WS durch den Scutellum-HS inaktiviert werden und als iWS[1] in die Koleoptile wandern, um in deren Spitze wieder reaktiviert zu werden. Dieser *iWS* wurde in unseren eigenen Versuchen ebenfalls in Wurzelextrakten nachgewiesen und als reversibel inaktiv erkannt; denn wie Tegethoff (1951) beim iWS des Maisscutellums zeigte, wurde auch bei unseren Wurzelextrakten durch *Hydrolyse* mit Säuren und Alkalien WS in Freiheit gesetzt. Besonders wirksam erwies sich dabei HCl (Versuch 10); durch sie wurde der gesamte HS-Gehalt zerstört; nicht aber bei Behandlung der Extrakte mit Alkalien (Versuch 11). Eine Zunahme des WS-Gehaltes durch Säurebehandlung ist auch schon von Berger und Avery (1944) bei Maisextrakten, von v. Guttenberg und Lehle-Joerges (1947) bei verschiedenen Samen, von Funke und Söding (1948) an Haferkoleoptilen und von Tegethoff (1951) beim Maisscutellum festgestellt worden. Bei der Alkalihydrolyse (durchgeführt von Avery, Berger und Shalucha 1941, Avery und Berger 1944, Haagen-Smit 1942/46, v. Guttenberg, Lehle-Joerges 1947 und Tegethoff 1951) beobachtete man eine starke Abhängigkeit von der Temperatur und der Einwirkungszeit; bei KOH genügte im allgemeinen eine dreistündige Behandlung bei 100° C, um sämtlichen iWS zu zerstören. In den eigenen Versuchen betrug die Einwirkungszeit zwar auch 3 Std, doch wurde mit schwächeren Basen gearbeitet (NH_4OH), so daß wahrscheinlich eine Hydrolyse des iWS nur teilweise erfolgen konnte.

[1] Die Existenz des iWS darf auf Grund zahlreicher Arbeiten als gesichert angenommen werden (Voss 1939, Funke 1943, Funke und Söding 1948, Meyer 1950, Tegethoff 1951 und Baumeister 1951).

In diesem Zusammenhang muß auch erwähnt werden, daß der HS-Gehalt der Extraktpflanzen je nach dem p_H, in dem sie aufwuchsen, recht unterschiedlich war (s. Versuch 7): saure und alkalische Medien verminderten den HS-Gehalt. Offenbar findet auch unter diesen Bedingungen eine teilweise Hydrolyse des iWS statt. Die Ansicht von VIEHMANN (1939), nach der unter dem Einfluß von Säuren hemmende Stoffe aktiviert oder gebildet werden, kann für die Wurzeln nicht zutreffen, da keine hemmende Wirkung festgestellt wurde.

In den untersuchten Roggenwurzelextrakten müssen aber außer dem iWS noch ein WS und ein weiterer HS vorhanden sein. Auf die Existenz eines WS muß daraus geschlossen werden, daß bei Herstellung von Verdünnungsstufen des Wurzelextraktes die Hemmung in eine Förderung umschlug. Diese Förderung kann nicht durch Auxin a bedingt sein, da sie auch nach einer H_2O_2-Behandlung des Extraktes auftrat, denn nach FUNKE und SÖDING (1948), MEYER (1950) u. a. wird Auxin a durch H_2O_2 restlos zerstört. Vermutlich ist dieser wachstumsfördernde Stoff *IES*. Dafür spricht, daß sowohl bei Wurzelextrakten als auch bei Lösungen von künstlicher IES, Wachstumsförderungen nach Bestrahlung mit ultraviolettem Licht je nach der Konzentration der Lösungen entweder ganz ausgeschaltet oder doch weitgehend herabgesetzt waren. Das steht im Einklang mit der Meinung von WILDMANN und BONNER (1948), die aus ihren Untersuchungen gefolgert haben, daß der WS der höheren Pflanzen zum großen Teil, wenn nicht sogar ausschließlich IES ist[1].

Aus Versuch 12 wurde neben dem iWS auf die Existenz eines HS geschlossen. Inaktiver WS soll nämlich nach TEGETHOFF (1951) u. a. nicht in der Lage sein, IES zu inaktivieren, während das der Wurzel-HS in Versuch 14 selbst in Verdünnungsstufen noch vermochte, die keine Hemmung mehr hervorriefen. Die Ansicht von POHL und TEGETHOFF (1949), POHL (1951) und TEGETHOFF (1951), nach der der HS sich mit dem WS zum iWS zusammen lagert, scheint auch für die Wurzelverhältnisse zuzutreffen. Damit stimmt die Behauptung von Voss nicht überein, wonach der HS über die Zellen antagonistisch zum WS wirken soll[2].

Für weitere Untersuchungen dürfte die gefundene Tatsache von Wichtigkeit sein, daß *hemmstoffarme Pflanzen* auf WS viel empfindlicher reagieren als *hemmstoffreiche* (Versuche 14, 18, 19). Die Empfindlichkeit für WS wird also offenbar durch den HS beeinflußt; wahrscheinlich inaktiviert der HS den aufgenommenen WS.

[1] Im Gegensatz zu neueren Arbeiten glauben v. GUTTENBERG und LEHLE-JOERGES (1947), daß das Wurzelwachstum auf Auxin a beruht, während die IES als Katalysator wirken und im Atmungsstoffwechsel eine entscheidende Rolle spielen soll (s. auch v. GUTTENBERG 1949).

[2] Antagonistische Wirkung erzielte auch MOEWUS (1949) bei Blastokolinen aus Blättern und Früchten.

Auf Grund der in der Literatur niedergelegten Erfahrungen sowie der eigenen Versuche darf man sich die HS-WS-Verhältnisse in der Wurzel folgendermaßen vorstellen: Wie schon Funke und Söding sowie Tegethoff beim Sproß und Endosperm von Gramineen festgestellt haben, ist auch in der Wurzel ein HS, ein WS und ein iWS vorhanden, die miteinander im Gleichgewicht stehen. Ob die in vitro durch Hydrolyse erfolgte WS-Aktivierung in vivo durch ein Fermentsystem in der Wurzelspitze erfolgt, wobei der HS abgebaut wird (wie es Tegethoff für Koleoptilspitzen fordert) und ob der iWS aus dem Scutellum stammt, bedarf noch weiterer Untersuchungen.

Zusammenfassung der wichtigsten experimentellen Ergebnisse.

1. Durch Messung des Wurzel- und Sproßwachstums von Roggen-, Weizen- und Gerstenkeimlingen wurde festgestellt, daß die aus den Wurzeln dieser Pflanzen hergestellten Extrakte in starken Konzentrationen hemmend wirken.

2. Die größte Hemmung wurde mit Äthylalkohol als Extraktionsmittel erzielt, während Äther und Chloroform am ungeeignetsten waren. Optimale Hemmung fand statt, wenn die Testpflanzen im Dauerlicht standen; das Vorhandensein des Endosperms dieser Pflanzen erwies sich für die Hemmung als bedeutungslos. Beim Aufbewahren des Wurzelextraktes im Zimmer verminderte sich die hemmende Wirkung ständig.

3. Wurde der Wurzelextrakt auf $^1/_{10}$ verdünnt, so wirkte er wachstumsfördernd. Dieser Effekt kann nicht auf Auxin a beruhen, denn eine H_2O_2-Behandlung des Extraktes hatte auf den Grad der Wachstumsförderung keinen Einfluß. Durch Bestrahlung des Wurzelextraktes und von Lösungen von Indolylessigsäure mit ultraviolettem Licht wurden deren Wirkungen weitgehend zerstört. Daraus wird geschlossen, daß in dem Wurzelextrakt Indolylessigsäure vorhanden ist.

4. Die Existenz von inaktivem Wuchsstoff ergab sich durch Hydrolyseversuche der Extrakte mit Säuren und Alkalien, wobei unter Fehlen der Hemmung eine gesteigerte Wachstumsförderung beobachtet wurde. Der Hemmstoffgehalt der Pflanzen nahm ab, wenn sie, bevor sie zur Extraktherstellung verwandt wurden, in sauren oder alkalischen Medien aufgezogen wurden.

5. Wurzelextrakte vermochten Wuchsstoff zu inaktivieren, und zwar selbst noch in Konzentrationen, die nicht mehr hemmend wirkten. Daraus wird auf das Vorhandensein auch eines Hemmstoffes im Wurzelextrakt geschlossen.

6. Extrakte von Roggen-, Gersten- und Weizenwurzeln riefen bei Gersten-, besonders aber bei Weizentestpflanzen geringere Hemmung und stärkere Wachstumsförderung als bei Roggenpflanzen hervor.

Herrn Professor Dr. Harder danke ich aufrichtig für die stete Förderung der Arbeit.

Literatur.

Amlong, H. U.: Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 17 (1938). — Avery jr., G. D.: Amer. J. Bot. **26**, 679 (1939). — Avery, jr. G. S., and J. Berger: Amer. J. Bot. **28**, 598 (1941). — Avery jr., G. S., J. Berger and R. O. White: Amer. J. Bot. **32**, 188 (1945). — Avery jr., G. S., P. R. Burkholder and H. B. Creighton: Amer. J. Bot. **24**, 226 (1937). — Avery jr., G. S., H. B. Creighton and B. Shalucha: Amer. J. Bot. **27**, 289 (1940). — Baumeister, G.: Planta (Berl.) **38**, 683 (1951). — Berger, J., and G. S. Avery jr.: Amer. J. bot. **31**, 199 (1944). — Boysen-Jensen, P.: Planta (Berl.) **31**, 653 (1940/41). — Erxleben, H.: Erg. Physiol. **37**, 186 (1935). — Funke, H.: Jb. Bot. **91**, 54 (1943). — Funke, H., u. H. Söding: Planta (Berl.) **36**, 341 (1948). — Goodwin: Amer. J. Bot. **35**, 52 (1948). — Gustafson, F. G.: Amer. J. Bot. **28**, 1 (1941). — Guttenberg, H. v.: Fortschr. Bot. **12**, 323 (1949). — Guttenberg, H. v., u. E. Lehle-Joerges: Planta (Berl.) **35**, 281 (1948). — Guttenberg, H. v., u. S. Segelitz: Planta (Berl.) **28**, 156 (1938). — Hare, D., and H. Kersten: Plant Physiology **12**, 509 (1937). — Hemberg, T.: Acta Horti Bergiani **14**, 133 (1947). — Hitchcock, A. E.: Contrib. Boyce Thompson Inst. **7**, 87 (1935). — Kinzel, W.: Frost und Licht als beeinflussende Kräfte bei der Samenkeimung. Abschluß der Erläuterungen und Ergänzungen zum 1. Buch. 1920. — Kögl, F.: Naturwiss. **23**, 839 (1935). — Kögl, F., A. J. Haagen-Smit u. H. Erxleben: Z. physiol. Chem. **225**, 315 (1934); **228**, 104 (1934b). — Kramer, M., and F. W. Went: Plant Physiology **24**, 207 (1949). — Larsen, P.: Planta (Berl.) **30**, 160 (1939/40). — Leopold, A. C., and K. V. Thimann: Amer. J. Bot. **36**, 342 (1949). — Linser, H.: Planta (Berl.) **29**, 392 (1939); **31**,/**32** (1940/41). — Meyer, E.: Planta (Berl.) **39**, 213 (1950). — Moewus, F.: Biol. Zbl. **68**, 58 (1949). — Oswald, H.: Plant Husbandry, Särtryck Ur. **2** (1935). — Overbeck, J. van: Amer. J. Bot. **28**, 1 (1941). — Pohl, R.: Planta (Berl.) **25**, 720 (1936). — Biol. Zbl. **70**, 119 (1951). — Pohl, R., u. B. Tegethoff: Naturwiss. **36**, 319 (1949). — Reed, G., and J. Bonner: Amer. J. Bot **35**, 52 (1948). — Siegel, S. M.: Bot. Gaz. **111**, 353 (1950). — Singh, B. N., G. P. Kapoor and R. S. Chondhri: Bot. Gaz. **97**, 649 (1936). — Stewart, W. S.: Bot. Gaz. **101**, 91 (1939/40). — Tegethoff, B.: Planta (Berl.) **38**, 648 (1951). — Thimann, K. V.: Amer. J. Bot. **24**, 407 (1937). — Thimann, K. V., and F. Skoog: Amer. J. Bot. **27**, 951·(1940). — Thimann, K. V., F. Skoog and A. C. Berger: Amer. J. Bot. **29**, 598 (1942). — Tsui, Ch.: Amer. J. Bot. **35** (1948). — Viehmann, H.: Jb. Bot. **87**, 408 (1939). — Voss, H.: Planta (Berl.) **30**, 252 (1939). — Wildmann, S. G., and R. M. Muir: Plant Physiology **24**, 84 (1949). — Zimmermann, P. W., and A. E. Hitchcock: Contrib. Boyce Thompson Inst. **7**, 439 (1935). — Zinzadzé, Ch.: Nutrition artificielle des plantes cultivées. 1932.

Planta, Bd. 40, S. 170—198 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock.

ÜBER DIE ENTWICKLUNG DES WURZELVEGETATIONSPUNKTES DER MONOKOTYLEDONEN.

Von

CHRISTIANE SCHADE und HERMANN VON GUTTENBERG.

Mit 22 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Juli 1951.)

1. Einleitung.

Die Untersuchungen an Wurzelspitzen von NEUMANN (1939), EIDNAES (1945) und v. GUTTENBERG (1947) haben für die Teilungsvorgänge im Wurzelvegetationspunkt der Dikotyledonen ein neues Bild ergeben. Frühere Autoren hatten im Zentrum des Wurzelvegetationspunktes eine Gruppe von ungeordneten Initialen beobachtet (JANCZEWSKI 1874, HOLLE 1876, ERIKSSON 1878, FLAHAULT 1878, SCHWENDENER 1882). Auch WILLIAMS (1947) fand am Wurzelscheitel zahlreicher Mono- und Dikotyledonen eine kleine Gruppe meristematischer Zellen, aus denen Epidermis, Hypoderm und Endodermis hervorgehen. Als Hypoderm bezeichnet er vermutlich die Außenrinde, den Rest der Rinde hält er für das Produkt der Endodermis. Aus denselben Initialen wird bei den Dikotyledonen auch die Haube gebildet. In der Spitze des Pleroms liegt eine zweite Gruppe von Initialen, aus denen der Zentralzylinder entsteht. v. GUTTENBERG und seine Schüler dagegen beobachteten in genau medianen Längsschnitten eine durch ihre charakteristische Lage auffallende Zelle, die als Zentralzelle bezeichnet wurde. Sie liegt im Zentrum des Wurzelscheitels und bildet meist die Kopfzelle der mittleren Kolumellareihe. Die Initialen der verschiedenen Histogene umgeben sie bogenförmig. v. GUTTENBERG und seine Schüler konnten die entscheidende Bedeutung dieser Zentralzelle für die Bildung der verschiedenen Gewebe beweisen. Obgleich sie sich viel seltener teilt als die Gewebeinitialen und deren Deszendenten, gelang es Teilungsbilder zu finden, die zeigen, daß die Zentralzelle durch achsenparallele Teilung das Periblem und Dermatogen samt Haube ergänzt und durch perikline Teilungsschritte zur Bildung der Kolumella und seltener des Pleroms beiträgt. *Damit besitzt die Zentralzelle die Funktion einer Scheitelzelle.* Sie wurde im Embryo und in der wachsenden Wurzel beobachtet.

Die hier geschilderten Verhältnisse erfahren eine Komplikation, wenn es im Vegetationspunkt zu starker transversaler Entwicklung kommt. Dann liegen zwei Platten von Initialen übereinander, von denen die eine das Plerom, die andere eine mehrschichtige Kolumella bildet. Es

ist dann schwer zu sagen, ob zwischen diesen beiden Platten auch noch eine genetische Beziehung besteht; in manchen Fällen scheint dies zuzutreffen (so bei *Cucurbita* und Leguminosen) in anderen nicht. Die Initialen für Periblem und Dermatogen samt den Seitenteilen der Kalyptra werden zur Seite geschoben, so daß sich der früher geschilderte Bogen von Initialen stark erweitert. So einen Fall hat kürzlich CLOWES (1950) für die Primärwurzel von Buchenkeimlingen beschrieben, wobei er den Bogen der Initialen räumlich sehr richtig mit einem Becher („cup") vergleicht. Er wendet sein Augenmerk aber, wie viele frühere Autoren, zu einseitig den periklinen Kurven zu und übersieht deshalb die Entwicklungsreihen, die etwa senkrecht dazu gegen die Peripherie der Wurzelspitze zu (also antiklin) verlaufen, obwohl sie (besonders in seiner Abb. 7) sehr deutlich zu sehen sind. In Wirklichkeit verlaufen 2 Wachstumsprozesse nebeneinander. Seitlich der breiten Kolumella und mit dieser wachsen die Zellzüge von den Pleromgrenzen an etwa achsenparallel gegen die Wurzelspitze zu. Oben bauen dann die innersten Zellen, die den „Bogen" bilden, nach transversalem Wachstum durch antikline Teilungen Periblem, Dermatogen und die Seitenteile der Haube auf. Es liegen hier also nicht immer dieselben Zellen an der Dermatogen-Periblemgrenze, vielmehr stets neue von oben herab abgeschiedene. Die Grenze wird jeweils durch jene Tangentialwände gebildet, die in der Verlängerung der älteren periklinalen Kurve liegen. Wäre dem nicht so, so müßte die ganze Kolumella am Periblemursprung und den Innenflächen der seitlichen Haubenteile vorbeigleiten.

Da sich unsere Untersuchungen bisher auf Dikotyledonen beschränkten, schien es angezeigt, in einer weiteren Arbeit festzustellen, ob im Scheitelpunkt der Wurzel der Monokotyledonen eine entsprechende Zentralzelle oder ein Bogenmeristem vorhanden ist.

Die ältere Literatur (JANCZEWSKI 1874, TREUB 1876, FLAHAULT 1878) beschreibt für den Wurzelvegetationspunkt der Monokotyledonen drei Typen. Der erste umfaßt die seltenen Fälle, bei welchen vier primäre, unabhängige Bildungsgewebe vorkommen, nämlich ein Kalyptrogen, Dermatogen, Periblem und Plerom. Der zweite Typ ist durch drei unabhängige Gewebe charakterisiert: Kalyptrogen und Plerom sind selbständig, Periblem und Dermatogen haben am Scheitel gemeinsame Initialen. Typische Vertreter sind die Gramineen. Der dritte Typ hat nur zwei unabhängige primäre Gewebe, nämlich ein Plerom und gemeinsame Initialen für Wurzelhaube, Dermatogen und Periblem; sehr charakteristische Beispiele hierfür finden sich bei den Liliaceen. TREUB (1876) hat zwischen Typ 2 und 3 Übergange beobachtet. Die Entwicklungsgeschichte der Bei- und Seitenwurzeln sehr vieler Monokotylenfamilien wurde von VAN TIEGHEM und DOULIOT (1888) untersucht mit dem Ergebnis, daß sowohl Bei- wie Seitenwurzeln im Perikambium des

Sprosses bzw. der Wurzel entstehen und in ihrer Entwicklungsgeschichte übereinstimmen.

HABERLANDT (1909), KROLL (1912) und SCHÜEPP (1926) haben die alte Typeneinteilung übernommen und Übersichten zusammengestellt, in die sie die einzelnen Familien einreihen. WAGNER (1939) hat die Entwicklungsvorgänge der Wurzelhaube mit denen des „Wurzelrippenmeristems" verglichen. Die Teilung der Periblеminitialen und ihrer Tochterzellen erfolgt in der Weise, daß die erste Querwand und die darauffolgende Längswand ein T bilden, das seinen Scheitel *zur Initiale kehrt*. Derartige Dreierzellgruppen gibt es in der Wurzelhaube auch, nur mit dem Unterschied, daß der Scheitel des T *vom Entwicklungszentrum abgewandt ist*. WAGNER hat auf einen wichtigen Unterschied in der Entwicklung der Haube des Liliaceen- und Gramineentyps hingewiesen. Die Lage der T-Wände in der Haube des Liliaceentyps ist gegenüber der des Gramineentyps um 90° gedreht. Bei Allium z. B. verläuft der Querstrich des T parallel oder leicht schräg zur Wurzelachse (⊣). Bei *Avena*, *Triticum* und *Hordeum* dagegen liegt er parallel zum Dermatogen (⊥). Die Differenzen in Wachstums- und Teilungsrichtung der Initialen erklärt sich WAGNER durch eine Verschiedenheit ihrer Polarität im Meristem und in der Wurzelhaube. Die Herkunft der Initialen hat WAGNER nicht bearbeitet. Der Vegetationspunkt der Bromeliaceenwurzel wurde von MEYER (1940) genauer untersucht. Sie fand in der Scheitelregion eine zentrale Zelle, die durch antikline Teilungen Dermatogen und Periblem bildet, während sie durch perikline Teilungen ständig die mittlere Partie der Wurzelhaube erneuert. NÄGELI (1877) hat bei den Wurzeln von *Heleocharis palustris*, *Vallisneria spiralis* und *Alisma Plantago* Wachstum mit einer Scheitelzelle vermutet, ohne jedoch eine nähere Beschreibung oder Abbildung für die einzelnen Objekte zu bringen. Für *Heleocharis palustris* hielt auch SCHWENDENER (1882) das Vorkommen einer Scheitelzelle für erwiesen; darauf kommen wir später zurück. Bei allen von uns untersuchten Objekten handelt es sich um bisher strittige Fälle. Die vorliegende Arbeit soll daher außer der Untersuchung, ob es bei den Monokotyledonen eine Zentralzelle gibt oder nicht, auch zur Klärung der umstrittenen Vertreter beitragen.

2. Material und Methodik.

Bei der Auswahl der Objekte war zu überlegen, welche Typen nach den bisherigen Ergebnissen die meisten Aussichten für die Auffindung einer Zentralzelle boten. Im Vergleich mit den Dikotyledonen war damit zu rechnen, daß ihre Verbreitung im Sinne einer sich allseitig teilenden Scheitelzelle, bei den Monokotyledonen geringer sein würde. Denn der erste Typ des Wurzelvegetationspunktes besitzt ein durchgehendes Dermatogen und scheidet daher für das Vorkommen einer Scheitelzelle im genannten Sinne aus. Seine Vertreter wurden aber trotzdem noch einmal untersucht, da die alte Literatur keine eindeutigen

Abbildungen dieser Objekte bringt. Auch für den Gramineentyp war das Auftreten einer Zentralzelle nicht zu erwarten, weil die Haube bei der fertigen Wurzel unabhängig vom Wurzelkörper wachsen soll. Aus dieser Gruppe wurden besonders die bei NÄGELI und SCHWENDENER erwähnten Objekte mit Scheitelzellwachstum überprüft. Dagegen boten die Vertreter des dritten Typs mit den gemeinsamen Initialen für Periblem, Dermatogen und Haube die Möglichkeit, eine Zentralzelle zu finden, darunter die besonders von TREUB (1876) beschriebenen Übergangstypen.

Es wurden von allen Objekten jüngere und ältere Stadien wachsender, sproßbürtiger Beiwurzeln untersucht. Diese sind für eine vergleichende Untersuchung besser geeignet, da die Primärwurzeln bei den Monokotyledonen kurzlebig und häufig reduziert sind. Bei *Pistia Stratiotes* und *Lemna* fehlt sogar die Anlage der Primärwurzel ganz, der Embryo entwickelt statt dessen eine Beiwurzel.

Das Material stammt teils aus den Gewächshäusern des Botanischen Instituts, teils aus der Umgebung Rostocks. Die Wurzelspitzen wurden nach BOUIN-ALLEN fixiert, die Schnitte mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt. In der Alkohol-Xylolstufe wurde eine Gegenfärbung mit Lichtgrün eingeschaltet, durch die die Zellwände deutlicher hervortreten. Die medianen Schnitte wurden mit Hilfe eines Zeichenapparates gezeichnet und teilweise photographiert. Die Photographie, die Zeichnung und das Originalbild wurden schließlich genau miteinander verglichen.

Um die Anzahl der Initialen im Raum genau festzustellen, wurden von einigen Objekten auch Querschnitte in Höhe des Scheitelzentrums gemacht.

3. Untersuchungen.

Entwicklungsgeschichtlich gesehen gibt es bei den Monokotyledonen 4 Ausnahmefälle, bei denen die Wurzeln kein echtes Kalyptrogen und folglich auch keine Wurzelhaube besitzen. Diese wird hier durch eine Tasche endodermalen Ursprungs ersetzt (poche). Nach VAN TIEGHEM und DOULIOT gehören dazu: *Hydrocharis Morsus-ranae*, die Lemnaceen, *Pistia Stratiotes* und die Pontederiaceen. Von diesen sollen *Hydrocharis* und *Lemna* eine den Scheitel geschlossen überziehende Epidermis besitzen, *Pistia* und *Eichhornia* dagegen eine Epistele; d. h. bei diesen beiden vereinen sich Dermatogen und Periblem am Scheitel zu einer Zelle. JANCZEWSKI, TREUB und FLAHAULT untersuchten aus dieser Gruppe die Wurzeln von *Hydrocharis* und *Pistia*. Auf Grund des fertigen Zustandes vereinten sie beide Objekte zu einem gemeinsamen ersten Typ. Bei ihnen besitzt die junge, sproßbürtige Beiwurzel 4 unabhängige, primäre Gewebe: Plerom, Periblem, Dermatogen und Haube. Die zu dieser Gruppe gehörenden Pflanzen sollen zuerst beschrieben werden. Wenn sie auch systematisch nicht zusammen gehören, so ist für sie gemeinsam, daß ihre Wurzeln in Wasser tauchen. Diese Tatsache macht Rückbildungen der Wurzel verständlich, vor allem fällt damit die Notwendigkeit einer sich immer wieder erneuernden Wurzelhaube fort.

Bei Verwendung der Bezeichnung „Epidermis" und „Dermatogen" ist zu beachten, daß VAN TIEGHEM und DOULIOT als Epidermis lediglich

die aus dem Perikambium hervorgegangene äußerste Schicht der Wurzelanlage bezeichnen, die durch die zweite tangentiale Teilung der perikambialen Zellen entsteht. Die übrigen Autoren setzen Epidermis = Dermatogen und lassen dabei die Entwicklungsgeschichte außer acht. Für sie ist immer die Schicht das Dermatogen, die später die Funktion der Epidermis, richtiger Rhizodermis, ausübt. Wir schließen uns dieser Auffassung an. Wenn im folgenden die Bezeichnung „Epidermis" im Sinne von VAN TIEGHEM und DOULIOT gebraucht wird, ist sie in Anführungsstriche gesetzt. Findet in einer Wurzelanlage die Trennung von „Epidermis" und Periblem nicht statt, so bezeichnen VAN TIEGHEM und DOULIOT die einschichtige Zellenlage, die das Plerom umgibt, als Epistele. Diese kann auf 1 oder 2 Zellen am Scheitelpunkt reduziert sein. Manchmal ist sie nur an den Seiten vorhanden, falls sich die zweite tangentiale Teilung des Perikambiumbogens auf seine mittleren Zellen beschränkt.

Hydrocharis Morsus-ranae.

(Hydrocharitaceae.)

Nach VAN TIEGHEM und DOULIOT entsteht die Beiwurzel von *Hydrocharis* wie gewöhnlich im Perikambium. Die Zellen des rhizogenen Bogens wachsen in radialer Richtung. Durch die erste tangentiale Teilung wird nach innen das Plerom abgeschieden. Die äußeren Zellen gehen eine zweite tangentiale Teilung ein, durch die Periblem und „Epidermis" getrennt werden. In den mittleren Zellen des Bogens findet diese zweite Teilung *etwas verzögert* statt, so daß dort die Epistele zuerst noch erhalten bleibt. Zur selben Zeit verbreitern Endodermis und 3—4 Schichten der inneren Rinde ihre Zellen. Diese teilen sich radial, so daß die Wurzel von einer mehrschichtigen Tasche (poche) umgeben ist, die ja charakteristisch für alle jungen Monokotylenwurzeln ist. Aber das Verhalten der „Epidermis" unterscheidet sich hier wesentlich von dem der andern Typen: sie teilt sich niemals tangential, und deshalb kann keine Kalyptra entstehen. Somit ist das, was TREUB und JANCZEWSKI für eine Kalyptra hielten, eine *Tasche endodermalen* Ursprungs, erst das Dermatogen ist *perikambialer* Herkunft. Es wird nach Abwerfen der Tasche, das an älteren Wurzeln regelmäßig eintritt, zur haarbildenden Schicht. Auch die Vermutung TREUBS, daß das Dermatogen ein Teil der „Haube" wäre, wird hinfällig.

Abb. 1 stellt einen medianen Längsschnitt durch eine junge Beiwurzel von *Hydrocharis Morsus-ranae* dar. Das Zentrum des Wurzelkörpers wird von einem schmalen Plerom eingenommen, das im Schnitt 2 Initialen hat. Durch die erste tangentiale Teilung wird das Perikambium differenziert, das einschichtig bleibt. Das Periblem ist an der

Basis durch eine große Initiale ausgezeichnet. Die äußere Periblemschicht bleibt ungeteilt, die innere dagegen spaltet mehrfach periklin auf. An das Periblem schließt sich ein durchgehendes, einschichtiges Dermatogen an, dessen eigener Charakter bei dieser Wurzel, deren ganze Länge etwa $^1/_2$ cm betrug, ohne weiteres zu erkennen war. Es unterscheidet sich von der innersten Taschenschicht durch die viel häufiger vorkommenden antiklinen Teilungen. Außerdem sind die Dermatogenzellen im Präparat kräftig gefärbt, während die Taschenzellen infolge ihres absterbenden Inhaltes fast farblos erscheinen. TREUB hat Wurzeln

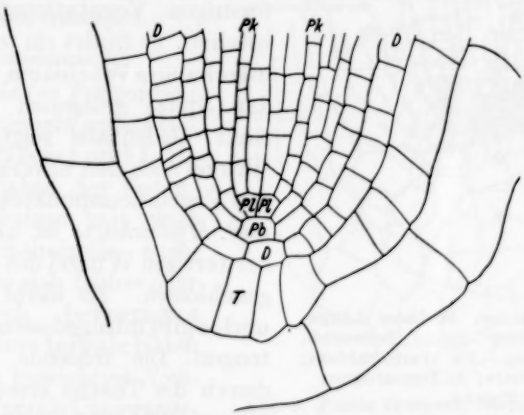


Abb. 1. *Hydrocharis Morsus-ranae.* Medianer Längsschnitt durch eine junge Beiwurzel. *Pl* Plerominitialen; *Pk* Perikambium; *Pb* Periblem initiale; *D* Dermatogen; *T* Tasche.

untersucht, die gerade im Hervorbrechen waren; vermutlich ist das der Grund, warum seine Abbildung noch keinen Unterschied zwischen Dermatogen und Taschenzellen erkennen läßt. In Abb. 1 besteht die Tasche nur noch aus 2 Schichten, die restlichen haben sich abgelöst.

Lemna minor.

(Lemnaceae.)

Die Entwicklungsgeschichte von *Lemna* ist nach VAN TIEGHEM und DOULIOT dieselbe wie die von *Hydrocharis*. Eine Haube wird von der „Epidermis" aus nicht gebildet. An ihre Stelle tritt auch hier die Tasche endodermalen Ursprungs, die aber im Gegensatz zu *Hydrocharis* während der ganzen Lebensdauer der Wurzel erhalten bleibt.

Abb. 2 zeigt uns ein frühes Entwicklungsstadium einer Beiwurzel von *Lemna minor*. Das Plerom besitzt eine große Initiale. Da der Wurzelkörper in der ganzen Länge kaum an Umfang zunimmt, sind perikline Teilungen hier selten. Das Perikambium ist wie gewöhnlich einschichtig. Das Periblem hat 2 nebeneinanderliegende Initialen, seine beiden äußeren Schichten teilen sich nur antiklin, die innerste Schicht

spaltet einmal in perikliner Richtung auf. Wie bei *Hydrocharis* finden wir ein *durchgehendes* Dermatogen, daran schließt sich die dreischichtige Tasche, die keine Abblätterungserscheinungen zeigt.

Zur Beobachtung sind nur sehr frühe Stadien geeignet, weil, worauf schon HEGELMEIER hingewiesen hat, das Scheitelmeristem sehr früh abzusterben beginnt. Im Schnitt Abb. 2 ist der Protoplast der schraffiert gezeichneten Zellen bereits abgestorben. HEGELMAIER nimmt an, daß die Wurzel, nach Aufhören des Spitzenwachstums, mit einer kreisförmigen Vegetationsfläche weitwächst. Es findet ein fortdauerndes interkalares Wachstum der oberhalb der Spitze gelegenen Gewebezone statt. Jedenfalls zeigt eine junge Wurzel noch den unveränderten Bau des Vegetationspunktes. Bei *Lemna* und *Hydrocharis* ist also auch bei der fertigen Wurzel das Dermatogen geschlossen. Es bleibt einschichtig und es gibt infolgedessen kein Kalyptrogen. Die fehlende Haube wird durch die Tasche ersetzt.

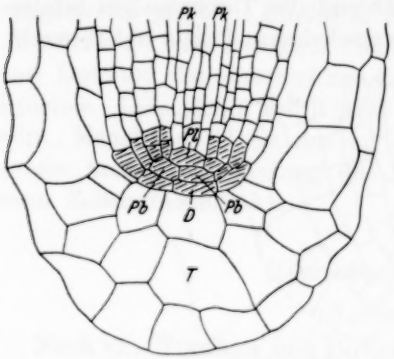


Abb. 2. *Lemna minor.* Medianer Längsschnitt durch eine junge Beiwurzel. *Pl* Pleromінitiale; *Pk* Perikambium; *Pb* Periblеminitiale; *D* Dermatogen; *T* Tasche.

Pistia Stratiotes.

(Araceae.)

Wie schon erwähnt, haben TREUB und FLAHAULT die Beiwurzel von *Pistia Stratiotes* zu ihrem 1. Typ gerechnet; danach müßte ihre Wurzel also 4 primäre Gewebe besitzen. VAN TIEGHEM und DOULIOT lehnen die Aufstellung eines Sondertyps für *Pistia* ab, weil sie die Eigenart der Wurzel für eine Degenerationserscheinung halten. Nach ihnen entsteht auch bei *Pistia* durch die erste tangentiale Teilung der sich radial verlängernden Perikambiumzellen das Plerom. Aber in der äußeren Schicht findet *keine* weitere tangentiale Teilung statt, damit unterbleibt am Scheitel die Periblem-„Epidermis"-trennung. Der Zentralzylinder ist also lediglich von der Epistele umgeben. Die Endodermis bildet eine mehrschichtige Tasche aus, deren innerste Schicht dauernd fest am Periblem haftet und das fehlende Dermatogen ersetzt. Die andern Taschenschichten lösen sich allmählich ab. VAN TIEGHEM und DOULIOT fassen die fehlende Periblem-„Epidermis"-trennung als Stillstand der Entwicklung auf, der mit dem begrenzten Wachstum der Wurzel zusammenhängt.

In Abb. 3 ist das Plerom von *Pistia* durch ein durchgehendes, einschichtiges Perikambium gekennzeichnet. Im Periblem ist nur eine

geringe tangentiale Teilungstendenz zu beobachten. Inneres und äußeres Periblem werden später differenziert, das äußere bleibt ungeteilt, das innere spaltet wenig periklin auf. Das Dermatogen bildet eine einfache, durchgehende Schicht, die sich von den folgenden Taschenschichten durch kleinere Zellen unterscheidet. Wir finden also bei der wachsenden Wurzel von *Pistia* dasselbe Bild wie bei *Hydrocharis*. Die Außenschicht der *Pistia*-Wurzel ist indessen ein dem Dermatogen der übrigen Wurzeln nur analoges nicht aber homologes Gewebe.

Eichhornia crassipes.

(Pontederiaceae.)

Eichhornia (= Pontederia) crassipes ist ein sehr umstrittenes Objekt. NÄGELI und LEITGEB (1868) haben der Seitenwurzel Wachstum mit einer einzigen Scheitelzelle zugeschrieben, die sich früher oder später durch bevorzugtes Wachstum einer Initiale bilden soll. TREUB bezeichnet *Eichhornia crassipes* als Übergangstyp, in der Annahme, daß die gemeinsamen Initialen für Dermatogen und Periblem von Zeit zu Zeit auch eine Tochterzelle an die Haube abgeben. Seine Abb. 13 und 15 zeigen aber offenbar keine genau medianen Schnitte. SCHÖNLAND (1887/88) beschreibt für die jüngsten Stadien der Beiwurzel 2—4 gemeinsame Initialen für Periblem und Dermatogen (= Epistele), während die älteren Wurzeln eigene, über dem Periblem geschlossene Dermatogeninitialen besitzen sollen. Entwicklungsgeschichtlich liegen die Dinge nach VAN TIEGHEM und DOULIOT folgendermaßen: Die Zellen des rhizogenen Bogens machen, wie bei *Pistia*, nur *eine* tangentiale Teilung durch, deshalb besteht der ganze Wurzelkörper nur aus Plerom und Epistele, eine „Epidermis" fehlt. Die Epistele (= Initiale des Periblems und Dermatogens) teilt sich nur antiklin, ihre Deszendenten spalten in der üblichen periblemartigen Weise auf. Eine Haube kann gar nicht entstehen, sie wird durch eine Tasche endodermalen Ursprungs, die sich in der Scheitelregion vielfach teilt, ersetzt. Später löst sich die Tasche allmählich auf, die Epistele wird schließlich bloßgelegt, die äußerste Schicht des Wurzelkörpers übernimmt die Haarbildung, entspricht also einem echten Dermatogen.

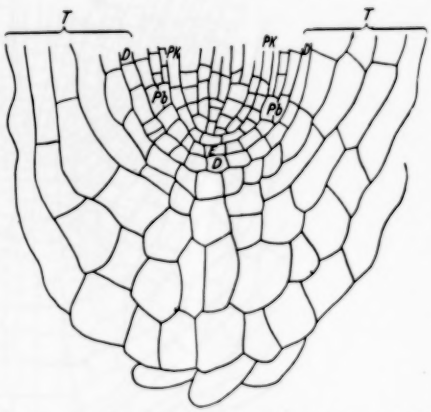


Abb. 3. *Pistia Stratiotes.* Medianer Längsschnitt durch eine Beiwurzel. *Pk* Perikambium; *E* Epistele; *Pb* Periblem; *D* Dermatogen; *T* Tasche.

Abb. 4 zeigt eine ältere Beiwurzel mit mächtig entwickelter Tasche. Das Plerom besitzt ein durchgehendes, einschichtiges Perikambium. Periblem und Dermatogen haben am Scheitel eine Initiale, die Epistele, die wir im Gegensatz zu SCHÖNLAND an allen medianen Schnitten älterer Beiwurzeln beobachteten. Einerseits unterscheidet sich also *Eichhornia* von *Pistia* dadurch, daß sich die *ganze* Tasche ablöst und die Epistele freigelegt wird, bei *Pistia* dagegen bleibt die innerste

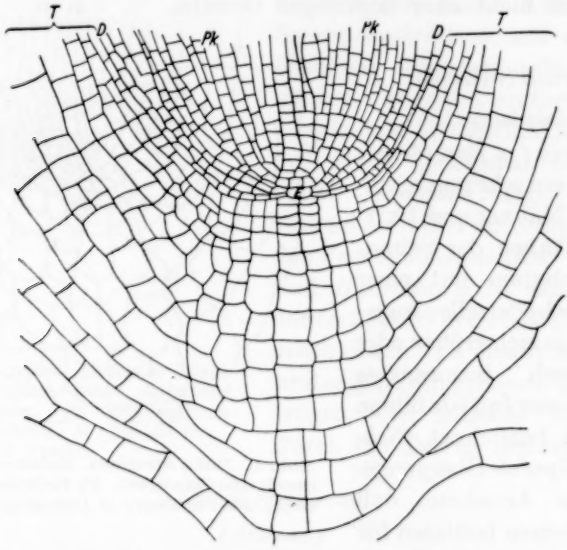


Abb. 4. *Eichhornia crassipes.* Medianer Längsschnitt durch eine ältere Beiwurzel. *Pk* Perikambium; *E* Epistele; *D* Dermatogen; *T* Tasche.

Schicht der Tasche erhalten und bildet sozusagen ein falsches Dermatogen. Andererseits haben sie bei der Anlage das Fehlen der zweiten tangentialen Teilung gemeinsam, dadurch unterbleibt 1. die Periblem-„Epidermis"-trennung und 2. die Haubenbildung.

Vallisneria spiralis.
(Hydrocharitaceae.)

Die Beiwurzel von *Vallisneria spiralis* ist besonders regelmäßig gebaut. NÄGELI (1877) erwähnt sie unter den Pflanzen, deren Wurzeln mittels einer Scheitelzelle wachsen sollen, bringt aber keine Abbildung. Er beschreibt diese Scheitelzelle für *Vallisneria*, *Alisma* und *Heleocharis* folgendermaßen: Sie erscheint auf Längsschnitten vierseitig, von oben meist dreieckig. Durch Längswände werden Segmente abgeschnitten, die sich dann in Dermatogen und Periblem aufspalten. Durch Querwände werden Zellen an den Wurzelkörper abgegeben, aus denen das

Plerom entsteht. Die Wurzelhaube wächst später vorzugsweise durch Teilung ihrer dem Wurzelkörper anliegenden Zellen, also selbständig.

Treub bezeichnet *Vallisneria* als Übergangstyp zwischen dem Verhalten der Gramineen und Liliaceen, während nach Schwendener und Holle (1871) hier ein unabhängiges Kalyptrogen vorliegt. Entwicklungsgeschichtlich geht die Beiwurzel nach van Tieghem und Douliot aus 2—3 Zellen des rhizogenen Bogens hervor, die durch die erste tangentiale Teilung das Plerom nach innen abtrennen. In der äußeren Schicht

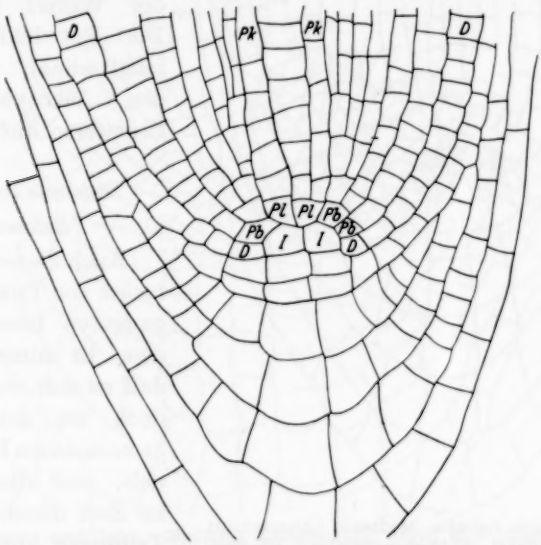


Abb. 5. *Vallisneria spiralis*. Medianer Längsschnitt durch eine Beiwurzel. *Pl* Pleromінitialen; *Pk* Perikambium; *I* gemeinsame Initialen für Periblem und Dermatogen; *Pb* Periblem; *D* Dermatogen.

findet die 2. Teilung nur in der mittleren Zelle statt, an den Seiten bleibt die Epistele erhalten. Die Haube entsteht vor dem Hervorbrechen der Wurzel durch perikline Aufspaltungen der „Epidermis". Sie ist von einer Tasche umgeben, die einschichtig bleibt.

In Abb. 5 fällt das schmale, nur dreischichtige Plerom auf, das von 2 Initialen abstammt. Periblem und Dermatogen gehen am Scheitel aus 2 gemeinsamen, nebeneinanderliegenden Initialen hervor, manchmal war im Schnitt auch nur eine zu sehen. Die äußere Periblemschicht bleibt auch hier ungeteilt, die innere spaltet mehrfach in perikliner Richtung auf. Soweit stimmt das Wachstum des Wurzelkörpers mit dem der Gramineen überein. Betrachten wir aber die Haube mit ihren kurzen, regelmäßigen Kappen und den charakteristischen Aufspaltungen mit vom Zentrum abgewandtem T-Scheitel, so erkennen wir eine typische „Liliaceenhaube" und keineswegs den Gramineentypus. Die einzelnen

Medianschnitte waren verschieden. Manchmal war eine deutliche genetische Beziehung zwischen den 2 zentralen Initialen des Periblems + Dermatogens und den beiden mittleren Bildungszellen der Haube zu erkennen (Abb. 5). In anderen Fällen schien die Haube ganz selbständig zu sein, wie es Abb. 6 zeigt. Eine einzige gemeinsame Scheitelzelle, wie NÄGELI sie beschreibt, wurde nicht beobachtet. *Vallisneria* stellt somit einen Vertreter des Liliaceentyps von einfachster Form dar, die durch die geringe Dicke der Wurzel bedingt ist. Die Entwicklung erfolgt longitudinal, wie sie bei den Dikotyledonen die Cruciferen aufweisen.

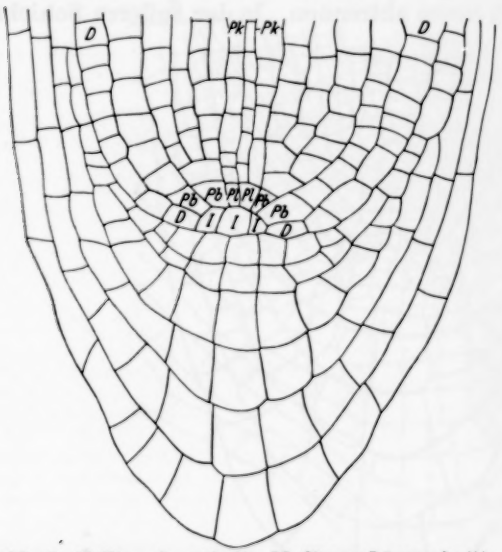


Abb. 6. *Vallisneria spiralis.* Medianer Längsschnitt durch eine Beiwurzel. *Pl* Pleromінitialen; *Pk* Perikambium; *I* gemeinsame Initialen für Periblem und Dermatogen; *Pb* Periblem; *D* Dermatogen.

Butomus umbellatus.
(Butomaceae.)

Auch *Butomus umbellatus* ist von TREUB als Übergangstyp bezeichnet worden. Er nimmt aber an, daß es sich wahrscheinlich doch um den Typ mit gemeinsamen Initialen handelt, weil diese von Zeit zu Zeit durch tangentiale Teilungen auch zur Haubenbildung beitragen. Er fand in allen Schnitten am Scheitel zwischen Plerom und Haube mindestens 2 Zellschichten übereinander. Seine Abb. 27 zeigt 2 nebeneinanderliegende Peribleminitialen, darunter 2 schmalere Zellen, die das Dermatogen abschließen. Wegen ihrer Unregelmäßigkeit will er sie aber nicht als besondere Initialen des Dermatogens ansehen, sondern als Abkömmling der darüberliegenden beiden Peribleminitialen. An der Haubenbildung sollen sie sich nicht wesentlich beteiligen. Die Entwicklungsgeschichte verläuft nach VAN TIEGHEM und DOULIOT normal. Durch 2 tangentiale Teilungen des Perikambiumbogens werden Plerom, Periblem und „Epidermis" gebildet. Etwas später entsteht die Haube durch tangentiale Teilungen der „Epidermis". Die Tasche bleibt auch hier einschichtig.

Bei der wachsenden Wurzel beobachteten wir im Gegensatz zu TREUB im Zentrum nur eine Zellreihe. Eine sehr große Zelle (Abb. 7), die wir die Zentralzelle (*Z*) nennen wollen, bildet den Abschluß des

Periblems. Unter ihr liegt eine schmälere (K), mit der die mittlere Kolumellareihe beginnt. In etwa gleicher Höhe setzen seitlich die Dermatogeninitialen an. Über der Zentralzelle liegt eine der beiden Plerominitialen (Pl_1). Zu beiden Seiten der gemeinsamen Mittelreihe bestehen, wie besonders auf der rechten Seite der Abbildung zu sehen ist, weitere deutliche genetische Beziehungen zwischen Wurzelkörper und Haube. Die beiden Kolumellareihen K_1 und K_2 setzen sich im Dermatogen und dem ausbiegenden Block des Periblems fort. Auch

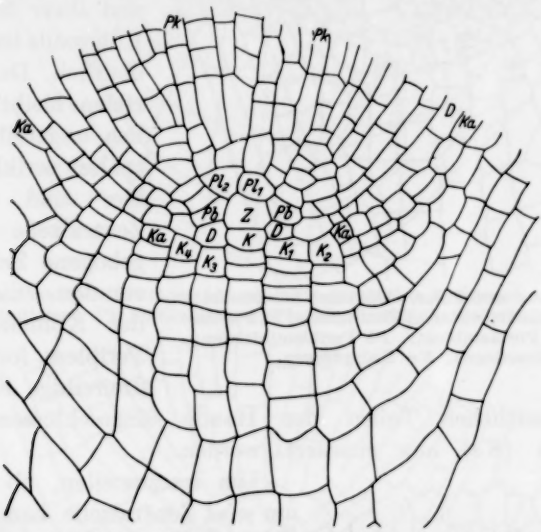


Abb. 7. *Butomus umbellatus*. Medianer Längsschnitt durch eine jüngere Beiwurzel. *Z* Zentralzelle; Pl_1, Pl_2 Plerominitialen; *Pk* Perikambium; *Pb* Periblemінitialen; *D* Dermatogen; *K*, K_1, K_2, K_3, K_4 Kolumella; *Ka* Kalyptrogen.

links sieht man, wie die von der Kolumella in das Periblem gehenden genetischen Zellreihen seitlich der Zentralzelle knieförmig ausbiegen. Das Bild ähnelt sehr dem von *Helianthus* und man wird daher vielleicht auch hier die Zentralzelle als eine Scheitelzelle ansprechen dürfen. Seitlich der Kolumella liegt die für die Monokotyledonen typische Selbstständigkeit der Haube vor. Hier tritt ein eigenes Kalyptrogen (*Ka*) auf, während bei *Helianthus* die ganze Haube mit dem Wurzelkörper zusammenhängt. Von den Plerominitialen liegt die eine (Pl_1) über der Zentralzelle, die zweite über dem Dreierblock von *Pb* (links). Eine genetische Beziehung wäre möglich, sie wird aber wenig wahrscheinlich, wenn man die Verhältnisse der Abb. 8 vergleicht. Das einschichtige Perikambium wird auf der rechten Seite verhältnismäßig spät differenziert, links entsteht es direkt aus den Initialen.

In Abb. 8 besitzt das Plerom 2 Initialen, die das Perikambium unmittelbar und symmetrisch erzeugen. In die Plerominitialen wölbt

sich die langgestreckte Zentralzelle vor. Sehr klar kommt die Teilung von *Z* in antikliner Richtung zum Ausdruck. Die beiden seitlichen Segmente haben eine tangentiale Teilung erfahren und bilden die Periblem- und Dermatogeninitialen. Die Verbindung der Zentralzellen und ihrer Nachbarn zur Kolumella ist wieder ganz deutlich. Das äußere Periblem bleibt wie gewöhnlich ungeteilt, das innere spaltet periklin auf. Auch hier sind seitlich der Zentralzelle knieförmig gebogene Zellreihen entstanden, die sich von der Kolumella bis ins Periblem fortsetzen. Die dreireihige Kolumella ist von den seitlichen Teilen der Haube eingeschlossen, die vom Kalyptrogen (*Ka*) aus erneuert werden.

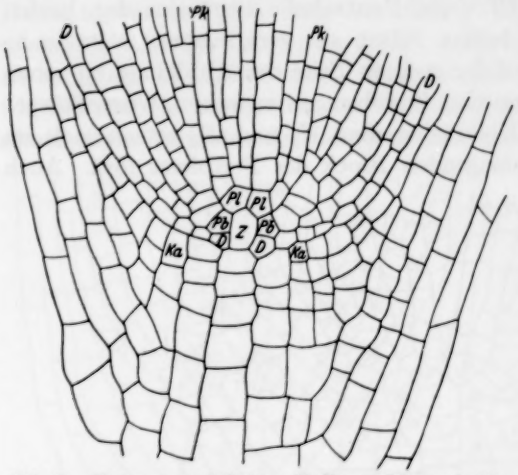


Abb. 8. *Butomus umbellatus.* Medianer Längsschnitt durch eine jüngere Beiwurzel. *Z* Zentralzelle; *Pl* Pleruminitialen; *Pk* Perikambium; *Pb* Periblemінitialen; *D* Dermatogen; *Ka* Kalyptrogen.

Um festzustellen, ob es sich nur um *eine* Zentralzelle handelt, wurden Querschnitte in Höhe des Scheitelzentrums gemacht. Abb. 9 zeigt im Mittelpunkt eine etwas größere Zelle, die von einem Kranz von Initialen umgeben ist; an diese schließen sich die unregelmäßiger angeordneten Deszendenten an.

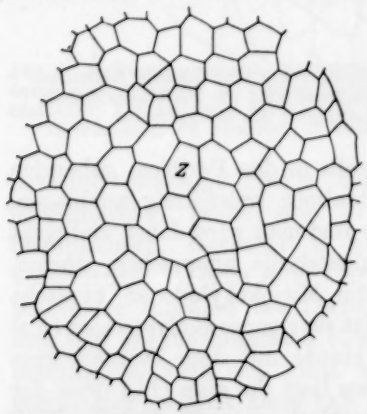


Abb. 9. *Butomus umbellatus.* Querschnitt durch eine Beiwurzel in Höhe des Scheitelzentrums. *Z* Zentralzelle.

Alisma Plantago.

(Alismataceae.)

Ein anderes Objekt, das TREUB zu seinem Übergangstyp gerechnet hat, ist *Alisma Plantago*. Er beschreibt die Haube als mehr oder minder selbständig. Eine Abbildung bringt er nicht, ebensowenig NÄGELI, der *Alisma* bei den Pflanzen mit Scheitelzellwachstum anführt. Seine Beschreibung der Scheitelzelle wurde schon bei *Vallisneria* wiedergegeben. FLAHAULT hat die Keimwurzel untersucht, und bei ihr eine ganz

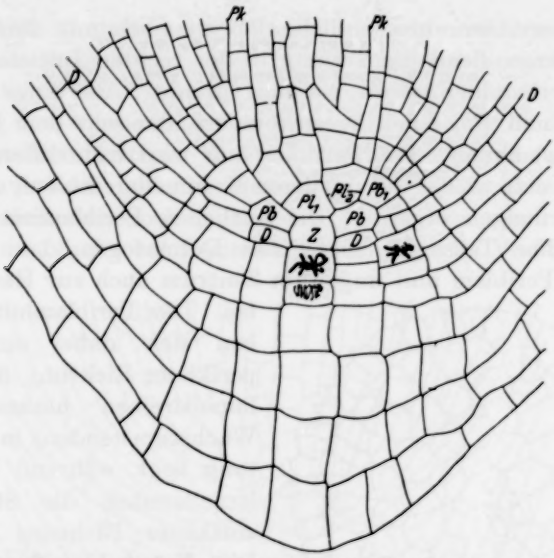


Abb. 10. *Alisma Plantago.* Medianer Längsschnitt durch eine Beiwurzel. *Z* Zentralzelle. Pl_1, Pl_3 Pleromінitialen; *Pk* Perikambium; *Pb*, Pb_1 Periblеminitialen; *D* Dermatogen;

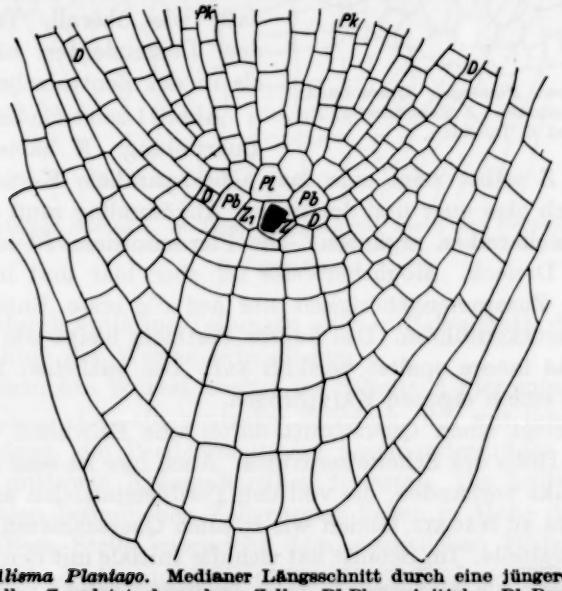


Abb. 11. *Alisma Plantago.* Medianer Längsschnitt durch eine jüngere Beiwurzel. *Z* Zentralzelle; Z_1 zuletzt abgegebene Zelle; *Pl* Pleromінitiale; *Pk* Perikambium; *Pb* Periblеminitialen; *D* Dermatogen.

unabhängige Haube festgestellt. Die Entwicklungsgeschichte ist nach VAN TIEGHEM und DOULIOT die gleiche wie bei *Butomus*.

Abb. 10 zeigt eine besonders regelmäßig gebaute Beiwurzel. Die mittlere, große Pleromінitiale Pl_1 liegt genau über der Zentralzelle.

Es ist indessen unwahrscheinlich, daß sie noch mit dieser genetisch zusammenhängt, denn die Teilung in der rechten Initiale (Pl_2) zeigt, daß das Plerom hier seinen Ausgang nimmt. Allerdings bildet auch Pl_2 mit Pb und Pb_1 einen Dreierkomplex, der sehr dem bei *Butomus* (Abb. 7 links) ähnelt. Das Perikambium wird früh differenziert. Die Zentralzelle sitzt wieder der mittleren Kolumellareihe auf, die sie durch perikline Teilungen ergänzt. Die seitlichen Perible minitialen bilden durch perikline Teilungen zuerst das Dermatogen, dann das innere und äußere Periblem und tragen im Zentrum auch zur Haubenbildung bei. Die Perible minitialen schieben sich dabei ein wenig in perikliner Richtung über die Kolumellareihen hinaus, da ihre Wachstumstendenz in dieser Richtung liegt, während bei den Kolumellareihen die Streckung in antikliner Richtung vorherrscht. Die Kernteilungsfiguren in der mittleren Kolumellareihe zeigen, daß, wie überall, Teilungen in den Deszendenten häufiger sind als in der Zentralzelle.

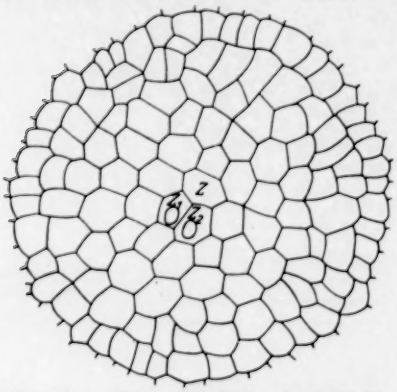


Abb. 12. *Alisma Plantago*. Querschnitt durch eine Beiwurzel. Z Zentralzelle; Z_1 und Z_2 Initialen.

Abb. 11 zeigt die Zentralzelle in Querteilung. Z hatte vorher Z_1 abgegeben. Z selbst zeigt eine fast achsenparallele Kernspindel, die Zelle teilt sich also quer und der untere Abkömmling muß die mittlere der 3 Kolumellareihen ergänzen. Die Pleromini tiale Pl bildet mit Z und Z_1 ein Dreieck. Möglicherweise ist aber hier und in ähnlichen Fällen diese Zusammengehörigkeit nur auf die erste Entstehung der Beiwurzel zurückzuführen. Das äußere Periblem bleibt wie gewöhnlich ungeteilt, das innere spaltet periklin auf. Die seitlichen Haubenteile entstammen einem eigenen Kalyptrogen.

Abb. 12 zeigt einen Querschnitt durch eine Beiwurzel von *Alisma Plantago*, in Höhe des Scheitelzentrums. Auch hier ist eine Zentralzelle im Mittelpunkt vorhanden, die von den Perible minitialen umgeben ist. Im Gegensatz zu NÄGELI fanden wir in allen Querschnitten eine 5- bis 7eckige Zentralzelle. Im Schnitt hat sich die Initiale mit den eingezeichneten Kernen eben wieder in radialer Richtung geteilt.

Hyacinthus orientalis.
(Liliaceae.)

Die bisher beschriebenen Pflanzen waren ausgesprochene Wasser- oder Sumpfpflanzen; als Vertreter der Landpflanzen wurde *Hyacinthus orientalis* untersucht.

Die in Abb. 13 dargestellte Wurzel war sehr mächtig. Demgemäß besitzt sie den charakteristischen Liliaceentyp mit breiter Initialzone. Im Gegensatz zu den früheren Objekten herrscht hier die transversale Entwicklung vor, wie sie unter den Dikotyledonen z. B. die Leguminosen und Cucurbitaceen besitzen. Während *Vallisneria* nur eine ganz schmale Kolumella ausbildet und bei *Butomus* und *Alisma* eine Erneuerung der Histogeninitialen noch mehr oder weniger von einer Zentralzelle aus möglich ist, findet bei *Hyacinthus* eine intensive Verbreiterung der

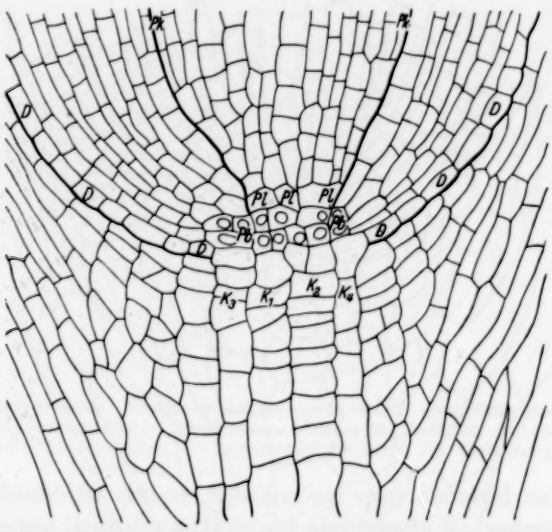


Abb. 13. *Hyacinthus orientalis.* Medianer Längsschnitt durch eine Beiwurzel. *Pl* Pleromінitialen; *Pk* Perikambium; *Pb* Periblemінitialen; K_1, K_2, K_3, K_4 Kolumella; *D* Dermatogen.

Initialzone durch antikline Teilungen aller Initialen statt, die die rasche Dickenzunahme der Wurzel ermöglichen.

Die untersuchte Wurzel besitzt im Schnitt 4 Pleromінitialen. Auf sie folgt spitzenwärts ein zentraler Zellblock, der mit ihnen genetisch zusammenhängt, die Periblemінitialen auseinanderdrängt und sich in den beiden mittleren Kolumellareihen fortsetzt. Die beiden unter den Pleromінitialen befindlichen Zellgruppen liegen in Höhe der Periblemінitialen. Diese Stelle entspricht dem eigentlichen Bildungszentrum, um das sich bogenförmig die Histogeninitialen gruppieren.

Die beiden seitlichen Kolumellareihen K_3 und K_4 gehen, wie besonders links deutlich zu sehen ist, oben in die breitaufspaltenden Periblemlagen über, die hier wieder knieförmig ausbiegen. Bis an sie reicht das Dermatogen heran, dessen Unabhängigkeit von den darunter liegenden Haubeninitialen klar hervortritt. Die Haube gliedert sich also, gerade so wie bei den oben genannten Dikotyledonen in einen zentralen Teil

und einen peripheren Mantel, nur wieder mit dem Unterschied, daß das Dermatogen von einem selbständigen Kalyptrogen überdeckt ist.

Heleocharis palustris.

(Cyperaceae.)

Heleocharis palustris gehört zur Familie der Cyperaceen, deren häufig untersuchte Vertreter von allen Autoren zum Gramineentyp gerechnet worden sind. Nur NÄGELI und SCHWENDENER wollen bei *Heleocharis*

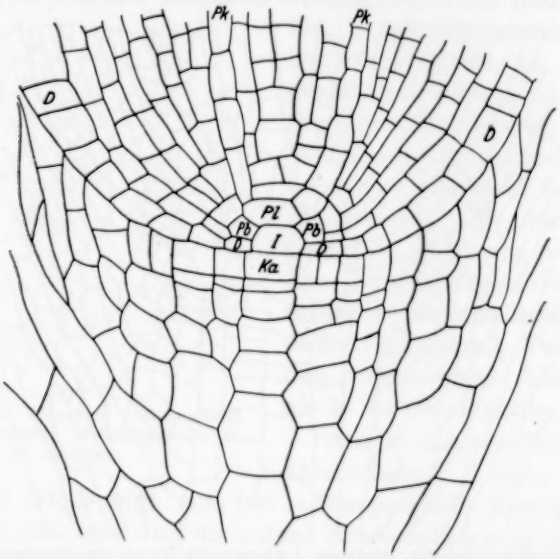


Abb. 14. *Heleocharis palustris.* Medianer Längsschnitt durch eine Beiwurzel. *Pl* Plerominitiale; *Pk* Perikambium; *I* gemeinsame Initiale für Periblem und Dermatogen; *Pb* Periblem initialen; *D* Dermatogen; *Ka* Kalyptrogen.

Wachstum mit einer Scheitelzelle beobachtet haben, NÄGELIS Beschreibung der Scheitelzelle wurde schon S. 178 mitgeteilt. Er nimmt eine Abstammung des Pleroms und der Haube von der Dermatogen-Periblem-initiale an. SCHWENDENERS Abb. 7 zeigt eine im Längsschnitt dreieckige Scheitelzelle, die, genau wie bei den Farnen, nach 3 Seiten Segmente zur Bildung des Wurzelkörpers liefern soll. Betrachten wir die Entwicklungsgeschichte der Cyperaceenwurzel nach VAN TIEGHEM und DOULIOT, so finden wir im rhizogenen Bogen 2 tangentiale Teilungen, durch die Plerom, Periblem und „Epidermis" abgetrennt werden. Kurz vor dem Hervortreten der Wurzel fängt die „Epidermis" an durch tangentiale Teilungen Kappen nach außen abzuscheiden; so entsteht die Haube. Die Endodermis umgibt sie mit einer einfachen Tasche.

In Abb. 14 finden wir im Plerom ein einschichtiges Perikambium, das unmittelbar aus der einzigen Plerominitiale hervorgeht. Alle Schnitte

stimmten hierin überein. Zur Entscheidung der Frage, ob ein genetischer Zusammenhang zwischen den zentralen Initialen von Plerom, Periblem + Dermatogen und Haube besteht, wie ihn SCHWENDENER angenommen hat, reichte das Untersuchungsmaterial nicht aus. Immerhin fällt auf, daß diese Initialen in einer Längsreihe liegen. Eine Segmentbildung nach Art der Farne liegt indessen sicher nicht vor. Das innere Periblem zeigt einige perikline Aufspaltungen, während die äußere Periblemschicht ungeteilt bleibt. Das Dermatogen wird, ähnlich wie bei den Gramineen und Juncaceen, bald sehr breit. Die Zahl der antiklinen

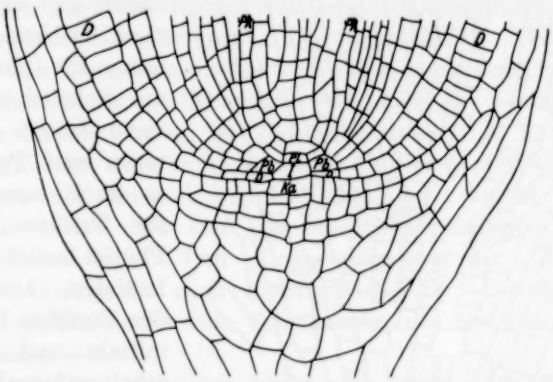


Abb. 15. *Juncus arcticus.* Medianer Längsschnitt durch eine Beiwurzel. *Pl* Pleromінitiale; *Pk* Perikambium; *I* gemeinsame Initiale für Periblem und Dermatogen; *Pb* Periblеminitialen; *D* Dermatogeninitialen; *Ka* Kalyptrogen.

Teilungen nimmt in einiger Entfernung vom Scheitel zu. Unterhalb des Dermatogens liegt das sich scharf absetzende Kalyptrogen, das sich überwiegend quer (senkrecht zur Längsachse) teilt, aber an der Dermatogengrenze auch einige Längsspaltungen aufweist. Durch diese entstehen die charakteristischen T-Wände, die WAGNER für einige Gramineen beschrieben hat. Der Querstrich des *T* ist gegenüber dem der Liliaceenhaube um 90° gedreht, nämlich abwärts gekehrt. Wir können also dieses Merkmal auch für *Heleocharis* feststellen.

Juncus arcticus.
(Juncaceae.)

Dieser Gramineentyp ist, besonders was die Haube betrifft, auch bei den Juncaceen vorhanden. Abb. 15 zeigt einen medianen Schnitt von *Juncus arcticus*. In ihm fällt eine zentrale Zellgruppe auf, in der offenbar genetische Zusammenhänge vorliegen. Die große Initiale für Periblem + Dermatogen trägt oben die kleine Schlußzelle des Pleroms, und unter ihr liegen in gleicher Breite 2 zentrale Kolumellakopfzellen. Auch ist besonders deutlich rechts zu sehen, daß die seitlichen Zellen zu diesem zentralen Block gehören.

Zea Mays, Triticum vulgare.
(Gramineae.)

Bei den Gramineen selbst ist bekanntlich an der wachsenden Wurzel die durchgehende Scheidung von Dermatogen und Kalyptrogen zu beobachten. SCHWENDENER hat außer bei *Heleocharis* auch bei *Triticum* die Selbständigkeit des Pleroms angezweifelt. Seine Abb. 18 zeigt eine durchgehende Zellreihe vom Dermatogen bis ins Plerom. Der Schnitt dürfte wohl kaum median sein, denn das Dermatogen hat am Scheitel 2 eigene Initialen, und über diesen liegt ein zweischichtiges Periblem. Bekanntlich haben die Gramineen aber am Scheitel eine gemeinsame Initiale für Dermatogen und Periblem, wie es auch unsere Abb. 16 für *Triticum* zeigt. Das Plerom besitzt selbständige Initialen. Auch zwischen der Periblem-Dermatogeninitiale und der Haube scheinen keine Beziehungen zu bestehen. Doch gibt es Fälle, wo in der Nähe der Wurzelachse Zellzüge von der Haube bis in das Plerom reichen. Dafür bietet die bekannte KNYSCHE Wandtafel ein Beispiel. Im übrigen gleicht unser Schnitt weitgehend dem von *Heleocharis*.

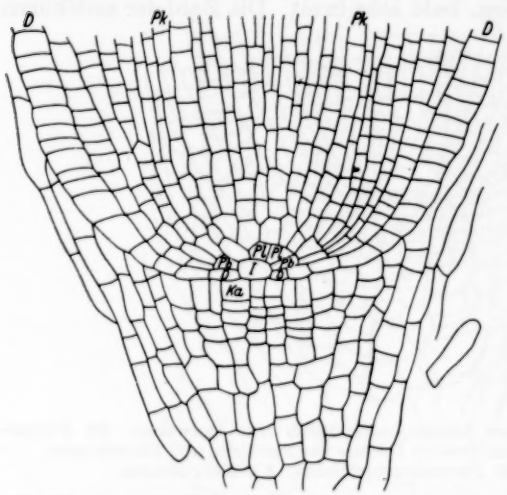


Abb. 16. *Triticum vulgare.* Medianer Längsschnitt durch eine Beiwurzel. *Pl* Pleromінitialen; *Pk* Perikambium; *I* gemeinsame Initiale für Dermatogen und Periblem; *Pb* Periblеminitialen; *D* Dermatogen; *Ka* Kalyptrogen.

WAGNER hat die fertigen Wurzelhauben von *Avena*, *Triticum*, *Hordeum* und *Zea Mays* untersucht und auf die schon mehrfach erwähnte Tatsache hingewiesen, daß hier die Teilungen, die zur Haubenbildung führen, in abweichender Weise erfolgen. Die Lage der *T*-Wände ist eine derartige, daß der Querbalken des *T* parallel zum Dermatogen liegt (⊥). Nur bei *Zea Mays* fand er eine Ausnahme. Zwar findet sich auch hier im mittleren Teil der Haube der oben beschriebene Teilungstypus. In den schräg hinaufziehenden, seitlichen Zellreihen dagegen sind die *T*-Wände aufgerichtet (⊥). Damit bildet die Wurzelhaube nach WAGNER eine Übergangsform zwischen der typischen Gramineenhaube und der der Dikotyledonen.

Die Entwicklung der Seitenwurzeln von *Zea Mays* verläuft nach JANCZEWSKI und VAN TIEGHEM und DOULIOT normal, es findet also

nach Abtrennung des Pleroms durch die erste tangentiale Teilung eine zweite statt, die Periblem und „Epidermis" entstehen läßt. Diese 2. Teilung betrifft nur die *vier* mittleren Zellen des rhizogenen Bogens, die übrigen ungeteilt bleibenden Zellen bilden die Epistele. Ehe die Seitenwurzel die Rinde des Mutterorgans ganz durchstoßen hat, finden in der „Epidermis" 2—3 tangentiale Teilungen statt. Durch diese entsteht ein kappenartiges Gebilde, das sich in die konkav gewölbte Tasche einfügt und die Kalyptra darstellt. Die Haube besteht also beim Verlassen des Mutterorgans aus 2 entwicklungsgeschichtlich verschiedenen Teilen. Außen liegt die Tasche endodermalen Ursprungs, innen die Kalyptra perikambialer Herkunft. Den Abschluß des Wurzelkörpers bildet jetzt das Dermatogen, das von einer gemeinsamen Periblem-Dermatogeninitiale aus gebildet wird. Ob diese dann auch noch zur Bildung der Haube beiträgt ist von JANCZEWSKI und VAN TIEGHEM und DOULIOT nicht untersucht worden. Ähnlich beschreiben NÄGELI und LEITGEB die Entwicklungsgeschichte der Wurzel von *Oryza sativa*. Doch bildet sich hier die eigentliche Kalyptra aus einer einzigen apikalen Zelle. Den Doppelcharakter der Gesamthaube betonen die Genannten auch ausdrücklich. Die Periblem-Dermatogeninitiale hielten sie für eine Scheitelzelle, die den ganzen Wurzelkörper aufbauen soll.

Trotz dieser Beschreibungen bleibt eine Lücke. Die Entwicklung vom Augenblick des Hervortretens der Seitenwurzel aus dem Mutterorgan bis zur fertigen Ausbildung wurde bisher nicht untersucht. Auch können die schematischen Abbildungen von VAN TIEGHEM und DOULIOT nicht befriedigen. Deshalb mußte die Entwicklungsgeschichte noch einmal überprüft werden. Aus ihr mußte hervorgehen, ob wenigstens während der Entwicklung noch Beziehungen zwischen Wurzelkörper und Wurzelhaube bestehen, die es ermöglichen, den Gramineentyp als Sonderfall des allgemeinen Monokotylentypus aufzufassen. Zur Entscheidung dieser Frage wurden Wurzeln von *Zea Mays* geschnitten, die Seitenwurzeln jeden Alters ausgebildet hatten. Wie bekannt haben Bei- und Seitenwurzeln die gleiche Entwicklungsgeschichte. Die gefundenen Gesetzmäßigkeiten dürften auch für die Beiwurzeln gelten.

Unsere Abb. 17 zeigt 8 Zellen des Perikambiums in radialer Streckung. Der entstandene rhizogene Bogen ist von der noch unveränderten Endodermis bedeckt. Durch die erste tangentiale Teilung wird nach innen das spätere Plerom abgeschieden (Abb. 18). In den 3 mittleren Plerom-reihen haben schon weitere Teilungen stattgefunden. Abb. 19 zeigt das Plerom noch weiter entwickelt. Nach außen hat jede Pleromreihe eine Zelle abgegliedert, so daß ein Bogen entsteht, der der „Epistele" von VAN TIEGHEM und DOULIOT entspricht. Darüber beginnt die Endodermis durch tangentiale Teilungen eine Wurzeltasche zu bilden.

Abb. 20 und 21 zeigen Wurzelanlagen im Längsschnitt der Mutterwurzel, knapp vor dem Heraustreten. Man erkennt in beiden Bildern

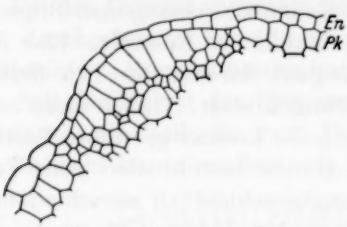


Abb. 17. *Zea Mays.* Medianer Längsschnitt durch eine Seitenwurzelanlage. *En* Endodermis; *Pk* Perikambium.

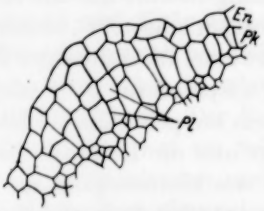


Abb. 18. *Zea Mays.* Medianer Längsschnitt durch eine Seitenwurzelanlage. *En* Endodermis; *Pk* Perikambium; *Pl* Plerom.

deutlich die mittlere Ausgangszelle für Dermatogen und Periblem. In Abb. 20 liegt über dieser Zelle eine weitere, offenbar von ihr abgespaltene, die deutlich über die Dermatogengrenze hinausragt. In Abb. 21 ist an dieser Stelle ein dreizelliger Komplex vorhanden, der hier eine kleine Kappe bildet. Sowohl die erstgenannte Zelle als auch dieser Dreierkomplex stellen den Ausgang für die Bildung der echten Kalyptra dar. Dabei bleibt die Frage offen, ob sich die 3 Zellen der Abb. 21 aus der einen Zelle der Abb. 20 entwickelten, oder ob bald nur eine (die mittelste) Zelle eine Kalyptrainitiale liefert, aus der die genannten 3 hervorgehen oder ob diese selbständig aus 3 darunter liegenden Zellen entstanden. Die „Epidermis" besteht hier also nur aus der geringen Kalyptraanlage. Noch vor oder bald nach dem Verlassen des Mutterorgans entsteht aus dieser das Kalyptrogen, indem sich die Anlage parallel zur Dermatogenoberfläche mit dieser verbreitert. Diese Verbreiterung setzt sich unter antikliner Teilung weiter fort, nachdem durch perikline Wände bereits Kalyptrazellen

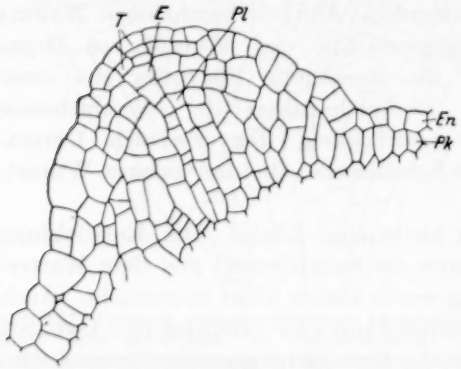


Abb. 19. *Zea Mays.* Medianer Längsschnitt durch eine Seitenwurzelanlage. *En* Endodermis; *T* Tasche; *Pk* Perikambium; *Pl* Plerom; *E* Epistele.

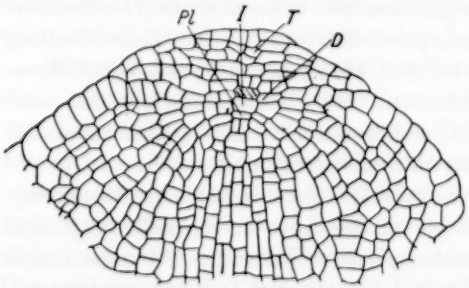


Abb. 20. *Zea Mays.* Medianer Längsschnitt durch eine Seitenwurzel. *D* Dermatogen; schraffierte Zelle = Kalyptrainitiale; *I* gemeinsame Initiale für Periblem und Dermatogen; *Pl* Plerom; *T* Tasche.

gebildet wurden. Dies erklärt die abweichende Stellung der *T*-Wände in der Haube. Ist nämlich von vornherein ein breiter Bildungsbogen für die Wurzelhaube (abgesehen von der Kolumella) vorhanden, so reicht auch die Anzahl der haubenbildenden Zellen von vornherein aus, um eine Haube in voller Breite zu liefern. Ist der Bogen der Initialen aber zunächst auf wenige Zellen beschränkt, so entstehen erst auch nur wenige Haubenzellen. Über diesen verbreitert sich dann das Kalyptrogen mittels antikliner Teilung, und das führt dazu, daß oben mehr Initialen auftreten als unten fertige Zellen liegen; so entsteht das Bild der *T*-Wände.

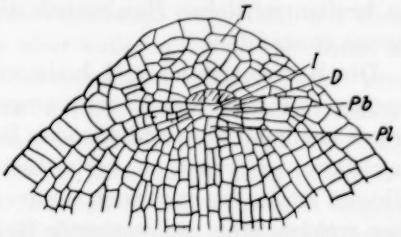


Abb. 21. *Zea Mays*. Medianer Längsschnitt durch eine Seitenwurzel. *D* Dermatogen; schraffierte Zellen = Kalyptrainitialen; *I* gemeinsame Initiale für Periblem und Dermatogen; *Pb* Periblem; *Pl* Plerom; *T* Tasche.

Es fragt sich nun, ob die Periblem-Dermatogeninitiale auch weiter noch eine Rolle bei der Haubenbildung spielt. Kurz nach dem Verlassen des Mutterorgans zeigt die Wurzel folgendes Bild (Abb. 22): Die Kalyptra hat sich stark vergrößert und ist von der mehrschichtigen endodermalen Tasche umgeben. Die Periblem-Dermatogeninitiale ist noch eindeutig durch eine Zelle mit der Kalyptra verbunden. Über dieser gerade abgegebenen Zelle liegen 2 weitere, die eine genetische Reihe mit der Periblem-initiale und eine einreihige Kolumella bilden. Es besteht also bei der jugendlichen Seitenwurzel von *Zea Mays* durchaus eine Verbindung zwischen Wurzelkörper und Haube. Das Plerom hat seine eigenen Initialen.

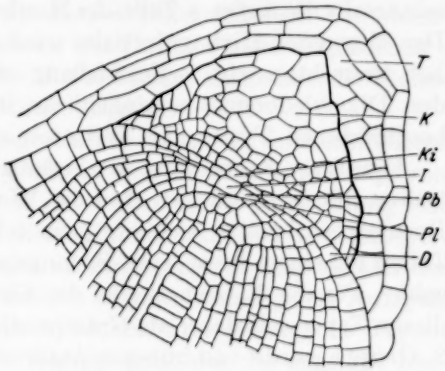


Abb. 22. *Zea Mays*. Medianer Längsschnitt durch eine Seitenwurzel. *D* Dermatogen; *I* gemeinsame Initiale für Periblem und Dermatogen; *K* Kalyptra (stark umrandet); *Ki* Kalyptrainitiale; *T* Tasche; *Pb* Periblem; *Pl* Plerom.

Ohne Frage beschränkt sich diese Beteiligung der Periblem-Dermatogeninitiale an der Haubenbildung auf die Lieferung weniger Zellen und hört dann auf. Denn die fertige Maiswurzel besitzt eine selbständige Haube, die trotz deutlicher Säulenbildung keine Beziehungen zum Wurzelkörper mehr zeigt.

4. Schlußbetrachtung.

Die Wurzelentwicklung der Monokotylen und der Dikotylen unterscheidet sich in einem wesentlichen Punkt. Bei den Dikotyledonen ist die Wurzelhaube ausschließlich ein Produkt des Wurzelkörpers. Nach

den Untersuchungen VON GUTTENBERGS und seiner Schüler entstehen bei bevorzugt longitudinaler Entwicklung alle Gewebe von einer zentralen Scheitelzelle aus oder von einer Gruppe von Zellen, die sich in der Medianlinie treffen. Die Wurzelhaube wird im Zentrum unmittelbar von diesen Zellen gebildet, wodurch eine schmale Kolumella entsteht; die breiten seitlichen Haubenteile sind durch Aufspaltung des Dermatogens entstanden.

Die Histogeninitialen, d. h. die ersten (innersten) Zellen des Dermatogens, Periblems und Pleroms umgeben diesen Bildungsmittelpunkt in einem unmittelbar anschließenden Bogen. Ist dagegen die Entwicklung transversal gefördert, so verbreitert sich die Kolumella zu einer vielreihigen Säule, die mit einer transversalen Reihe von Initialen beginnt, über welchen eine entsprechende Reihe von Plerominitialen liegt. Zwischen diesen beiden Initialreihen bestehen mehr oder minder deutliche genetische Beziehungen. Seitlich dieser Reihen setzen die weiteren Histogeninitialen an, nämlich die des Periblems und Dermatogens, das seinerseits die äußeren Teile der Haube zu Seiten der Kolumella bildet. Der Bogen der Histogeninitialen wird so stark verbreitert. Als wesentlich betrachten wir die Feststellung, daß die Wurzelhaubenbildung bei den Dikotyledonen eine einheitliche ist und die bisher als verschieden beschriebenen Typen nur Varianten eines Typus sind.

Eine klare Darstellung der Verhältnisse bei den Monokotylen fehlte bisher. Doch stand fest, daß die Wurzelhaube keine Beziehung zum Dermatogen besitzt, vielmehr ganz oder wenigstens in ihren seitlichen Teilen aus einem besonderen Bildungsgewebe, dem Kalyptrogen, hervorgeht. Für die 1. Gruppe sind die Gramineen das klassische Beispiel, dieser Typus soll daher als *Gramineentypus* bezeichnet werden. Bei der 2. Gruppe wurde von früheren Autoren eine mittlere Zone gemeinsamer Initialen festgestellt; nur die Seitenteile der Haube sollen hier aus einem besonderen Kalyptrogen entstehen. Diesen Typus wollen wir als den *Normaltypus* bezeichnen, da er nur wenige Ausnahmen besitzt. Wegen seines Vorkommens bei den häufig studierten Liliaceen wurde er auch Liliaceentypus genannt.

Unsere eigenen Untersuchungen galten zunächst der Frage, ob es auch bei den Monokotylen gelingt, einen gemeinsamen Ursprung sowohl für diese beiden Typen als auch für eine Reihe weiterer in der Literatur beschriebenen Sonderfälle aufzudecken. Ferner sollte untersucht werden, ob hier noch Fälle auftreten, die eine Zentralzelle besitzen, welche als Scheitelzelle gedeutet werden kann.

Bevor wir darauf näher eingehen, muß der prinzipielle Unterschied, der zwischen Mono- und Dikotyledonen in der Haubenbildung herrscht, nochmals klargelegt werden. Er ergibt sich aus der Entwicklungsgeschichte, die besonders von VAN TIEGHEM und DOULIOT an vielen

Seiten- und Beiwurzeln studiert wurde. Für das Verständnis dieses Unterschiedes ist folgende Tatsache von entscheidender Bedeutung: Die perikambialen Zellen, die eine Wurzel erzeugen, erfahren zunächst bei beiden Klassen nach radialer Streckung eine erste tangentiale Teilung, wobei die nach innen gekehrten Abkömmlinge das spätere Plerom bilden. Die äußeren Zellen teilen sich nochmals tangential und dieser 2. Schritt trennt das Periblem von einer äußeren Zellplatte. Diese hat nun ein verschiedenes Schicksal. Bei den Dikotyledonen ist sie breitbogenförmig; sie bedeckt die ganze Anlage, und es entsteht aus ihr das den ganzen Wurzelkörper überziehende Dermatogen (die „Epidermis" VAN TIEGHEMS und DOULIOTS) und durch tangentiale Aufspaltung am Scheitel die Kalyptra. Bei den Monokotyledonen dagegen ist die äußerste Zellplatte nur dem Scheitel der Anlage *flach* aufgesetzt, und sie liefert durch tangentiale Wände nur eine zunächst linsenförmige Kalyptra, dagegen kein Dermatogen. Dieses entsteht vielmehr aus für Periblem und Dermatogen gemeinsamen Initialzellen, ist also entwicklungsgeschichtlich etwas anderes als das der Dikotyledonen. Die Monokotyledonen haben nach VAN TIEGHEM und DOULIOT keine „Epidermis", da die äußersten Initialen bloß die Haube bilden; sie nennen die Monokotylen „liorrhiz", die Dikotyledonen „climacorrhiz".

Die verschiedene Entwicklungsgeschichte macht das unterschiedliche Verhalten der Mono- und Dikotyledonen bei der Haubenbildung von vornherein verständlich. Auch bei der embryonalen Entwicklung der Primärwurzel findet sich nämlich dieser Unterschied. Bei den Dikotyledonen bildet der Embryo da, wo er an den Suspensor ansetzt, aus der Hypophyse eine Kolumella, die seitlich in die dermatogenen Aufspaltungen übergeht. Bei den Monokotyledonen aber erzeugt die Hypophyse eine Zellplatte (das spätere Kalyptrogen), das die ungeteilt bleibenden Dermatogenzellen seitlich auseinanderschiebt. Wie in beiderlei Fällen die Kolumella entsteht, soll am Ende dieser Ausführungen dargestellt werden.

Der Normaltypus der Monokotyledonen erfährt nach unseren Untersuchungen die gleichen Abwandlungen, wie sie v. GUTTENBERG für die Dikotyledonen beschreibt. Je nachdem die longitudinale oder die transversale Entwicklung vorherrscht, erscheinen verschiedene Bilder. Das Extrem des Longitudinaltypus stellt *Vallisneria* dar, es folgen *Alisma* und *Butomus*. Bei diesen Pflanzen findet sich im Bildungsmittelpunkt der Wurzelspitze ähnlich wie bei manchen Dikotyledonen (z. B. *Helianthus*) eine Zentralzelle oder eine Gruppe von wenigen Zellen, die sich in der Medianlinie treffen. Die Zentralzelle ergänzt hauptsächlich die mittlere Kolumellareihe. Achsenparallele Teilungen wurden nur selten beobachtet, so daß anzunehmen ist, daß sich das Periblem im wesentlichen aus eigenen Initialen ergänzt. Diese bilden zusammen mit denen

des Pleroms wieder einen schmalen Bogen um den Bildungsmittelpunkt. *Butomus* leitet zum „Liliaceentyp" über, indem eine breitere Kolumella auftritt, deren Zellen genetische Beziehungen zum Dermatogen und Periblem des Wurzelkörpers erkennen lassen. Bei *Hyacinthus* und vielen anderen Monokotyledonen verbreitert sich die Haube und Körper verbindende Zone zu 3 und mehr Zellreihen, es liegt also transversale Entwicklung vor. Die Kolumella wird breit und setzt sich auf das Deutlichste in dem Wurzelkörper fort, ähnlich wie bei den Cucurbitaceen und Leguminosen unter den Dikotyledonen. Dadurch werden die Initialen des Periblems, Dermatogens und Kalyptrogens zur Seite geschoben, und es entsteht ein breiter Bogen, dessen Abschluß oben die Plerominitialen bilden. Daß in allen bisher beschriebenen Fällen stets nur eine quantitative Abwandlung ein und desselben Typus vorliegt, steht außer Zweifel.

Wir kommen nunmehr zu den Ausnahmen und wollen zuerst die Wasserpflanzen *Hydrocharis Morsus-ranae*, *Lemna minor* und *Pistia Stratiotes* besprechen. Gemeinsam für sie ist, daß ein geschlossenes, einschichtiges Dermatogen den Wurzelkörper bis über den Scheitel bedeckt. Diese Schicht kommt aber entwicklungsgeschichtlich verschieden zustande.

Bei *Hydrocharis* wird eine „Epidermis" im Sinne VAN TIEGHEMS und DOULIOTS abgeschieden, d. h. die zweite (äußere) tangentiale Teilung im Perikambium wird vollzogen. Die weitere Entwicklung weicht aber vom Normalfall völlig ab. Die äußerste Zellenlage teilt sich nur antiklin, bildet somit keine Kalyptra. Aber sie wächst wie bei den Dikotyledonen mit dem ganzen Wurzelkörper mit und bildet dessen Dermatogen. An Stelle der Haube tritt die Wurzeltasche auf, die sehr früh abgestoßen wird, die Wurzelspitze ist dann also nackt.

Lemna zeigt die gleiche Entwicklung des Dermatogens, besitzt also auch keine Haube, doch bleibt die Tasche zeitlebens erhalten. Auffällig ist eine Reduktionserscheinung, die darin besteht, daß das Spitzenmeristem nach dem Hervortreten der Beiwurzel abstirbt und die Wurzel nur noch interkalar weiterwächst.

Pistia führt den zweiten tangentialen Teilungsschritt im Perikambium nicht durch, besitzt daher überhaupt keine „Epidermis" und auch keine Haube. Die Tasche löst sich in ihren äußeren Lagen bald ab, die innerste aber bleibt erhalten und bekleidet die heranwachsende Wurzel als „Dermatogen". Dieses ist hier also ein den übrigen Dermatogenen analoges, nicht aber homologes Gebilde.

Eichhornia crassipes stimmt mit *Pistia* darin überein, daß die zweite tangentiale Teilung im Perikambium unterbleibt; es gibt also auch hier keine „Epidermis" und keine Haube. Das Dermatogen aber wird, wie in der fertigen Wurzel von *Vallisneria*, *Alisma* oder *Butomus* von einer apikalen mit dem Periblem gemeinsamen Initiale abgeschieden.

Es besteht kein Zweifel darüber, daß alle 4 beschriebenen Abweichungen sich vom Normaltypus ableiten lassen. Die Veränderungen erklären sich zwanglos aus dem Wasserleben. Die Wurzeln der genannten Pflanzen dringen nicht in das Erdreich ein, und das macht den Fortfall der Kalyptra verständlich. Wird aber eine solche nicht gebildet, so kann ein Dermatogen geschlossen den Wurzelscheitel überziehen.

Die Gramineen, Cyperaceen und Juncaceen nehmen eine Sonderstellung ein. Im Wurzelkörper fällt die immer vorhandene gemeinsame Schlußzelle für Periblem und Dermatogen auf, sehr charakteristisch ist auch die sehr rasche Teilungsfolge im Dermatogen an den Seiten der Wurzelspitze. Am auffälligsten aber verhält sich die Wurzelhaube. Sie scheint sich vollkommen selbständig zu entwickeln und zeigt einen ganz abweichenden Teilungsmodus. Bei allen anderen Mono- und bei den Dikotyledonen erfolgen Aufspaltungen in der Haube in den periklinalen Kurven, die ja eben dadurch entstehen. Die T-förmigen Teilungswände liegen so, daß der Querbalken des T antiklin und von der Wurzelachse abgekehrt orientiert ist (⊣). Bei den 3 genannten Familien aber erfolgt die Teilung der Haubeninitialen achsenparallel. Die T-Wände stehen also so, daß das *T* verkehrt aufrecht steht (⊥).

Wir sahen aber in unseren Studien, besonders bei *Juncus* einen Fall, bei dem der zentrale Abschluß des Wurzelkörpers kein absoluter ist, da man eine mittlere genetisch zusammengehörige Zellgruppe erkennen kann. Auch fällt auf, daß die starke Verschleimung und Quellung der Dermatogenaußenwände in der Mitte (im Bildungszentrum) bei allen diesen Pflanzen aufhört. Das weist beides darauf hin, daß an dieser Stelle doch Beziehungen zwischen Wurzelkörper und Haube bestehen. Diese Annahme bestätigte sich bei der Untersuchung der Seitenwurzelbildung von *Zea Mays*. Obgleich die völlig ausgebildete Wurzel keine Beziehungen zwischen Wurzelkörper und Haube erkennen läßt, zeigte sich, daß bei der Seitenwurzel, die gerade das Mutterorgan verlassen hat, doch noch genetische Beziehungen zwischen der mittleren Haubenreihe und der Periblem—Dermatogeninitiale bestehen. Diese gibt nämlich in einer zentralen Reihe einige Tochterzellen an die Haube ab. Entwicklungsgeschichtlich stellt die junge Gramineenhaube, wie schon VAN TIEGHEM und DOULIOT feststellten, ein uneinheitliches Gebilde dar; das gilt auch für die Juncaceen, Cyperaceen u. a. Unter der mehrschichtigen Tasche endodermalen Ursprungs liegt die Kalyptra, die aus perikambialem Gewebe hervorgeht. Im Laufe des Wachstums wird die Tasche abgestoßen. Wie weit dieser Entwicklungsvorgang der Gramineenhaube verbreitet ist, könnten nur weitere entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen zeigen.

Die vorliegende Untersuchung zeigt also, daß es auch bei den Monokotyledonen zwischen allen von den früheren Autoren aufgestellten Wurzeltypen Übergangsformen gibt.

Als einziger wesentlicher Unterschied zwischen dem Normaltypus der Monokotyledonen und dem der Dikotyledonen bleibt die erwähnte Tatsache, daß die ersten ein selbständiges Dermatogen besitzen, das nicht durch Teilungen zur Haubenbildung beiträgt. Wie wir hörten ist aber entwicklungsgeschichtlich betrachtet dieses „Dermatogen" etwas ganz anderes als das der Dikotyledonen. Nach der Entwicklungsgeschichte besitzen die Dikotyledonen eine Haube, die rückwärts mit ihrer innersten Lage die Wurzel gänzlich bedeckt und hier „Dermatogen" genannt wird. Bei den Monokotylen beschränkt sich der homologe Teil auf die Haube, und die äußerste Zellenlage, die den Wurzelkörper bedeckt, ist ein vom Periblem abgespaltenes „Dermatogen", das man vielleicht am besten als „Pseudodermatogen" bezeichnen würde. Geht man nun von diesem Standpunkt aus, so gibt es überhaupt keinen Unterschied zwischen den Normaltypen der Mono- und Dikotyledonen. Die Haube wird in beiden Fällen von homologen Bildungszellen in prinzipiell gleicher Weise durch Aufspaltungen erzeugt. Stets liegt ein zentraler Haubenteil (eine Kolumella) vor, der im Extrem nur aus einer Zellreihe bestehen kann, dann nämlich, wenn eine streng longitudinale Entwicklung vorliegt. Bei den Gramineen schließlich ist dieser Anteil nur in der ersten Anlage noch vorhanden. Je mehr die Entwicklung in die Breite geht, desto breiter wird auch der zentrale Anteil. Die seitlichen Haubenteile sind Aufspaltungen der ursprünglichen Dermatogenanlage, die bei den Monokotyledonen nur die Wurzelspitze bedeckt, während sie bei den Dikotyledonen den ganzen Wurzelkörper überzieht.

Zusammenfassung.

1. Es werden 4 Ausnahmefälle bei den Monokotyledonen beschrieben, deren Wurzeln keine Kalyptra bilden. Diese wird ersetzt durch eine Wurzeltasche endodermalen Ursprungs, die nach kurzer Zeit ganz oder teilweise abblättert, aber auch dauerhaft sein kann. Das Dermatogen entsteht bei *Hydrocharis* und *Lemna* normal und überzieht die ganze Wurzel. Bei *Eichhornia* wird es wie bei den Gramineen von einer gemeinsamen Dermatogen-Periblemінitiale gebildet, bei *Pistia* wird es durch die innerste Haubenlage ersetzt.

2. Bei *Butomus umbellatus* und *Alisma Plantago*, mit vorwiegend longitudinaler Wurzelentwicklung, liegt im Zentrum des Wurzelscheitels eine durch ihre Größe auffallende Zentralzelle, die die axile Kolumellareihe bildet, gelegentlich aber auch das Periblem und Dermatogen zu ergänzen scheint. Die Dermatogen- und Periblemінitialen liegen unmittelbar neben der Zentralzelle. Sie bilden mit den Pleromінitialen einen Bogen um diese.

3. Bei bevorzugt transversaler Entwicklung der Wurzel verbreitert sich die Initialzone, wobei mehrere Zellreihen vom Plerom bis in die

Haube ziehen. Die Initialen des Dermatogens und Periblems sowie das Kalyptrogen werden dadurch zur Seite geschoben; sie bilden mit den Pleromінitialen jetzt einen viel breiteren Bogen.

4. Eine Übergangsform zwischen Liliaceen- und Gramineentyp stellt die junge Seitenwurzel von *Zea Mays* dar. Bei ihr ist kurz nach Verlassen des Mutterorgans die Periblem-Dermatogeninitiale an der Haubenbildung beteiligt. Später wird die Haube ausschließlich vom Kalyptrogen aus gebildet. *Heleocharis* und *Juncus* dürften sich ähnlich verhalten.

5. Es ergibt sich insgesamt, daß die Haubenbildung bei den Monokotyledonen einheitlich verläuft, wobei allerdings der sog. Gramineentypus nur noch entwicklungsgeschichtlich eine Beziehung zum Normaltypus erkennen läßt.

6. Als einzig entscheidender Unterschied der Haubenbildung der Mono- und der Dikotyledonen bleibt die Tatsache, daß die äußerste Zellenlage der Wurzelanlage bei den ersten lediglich eine Kappe am Scheitel (Kalyptra) bildet, während bei den zweiten daraus ein den ganzen Wurzelkörper bedeckendes Gewebe (Dermatogen + Kalyptra) entsteht.

Literatur.

CLOWES, F. A. L.: Root apical meristems of *Fagus sylvatica*. New Phytologist **49**, No 2 (1950). — EIDNAES, M.: Über das Vorkommen einer Scheitelzelle in der Wurzelspitze der Dikotyledonen. Diss. Rostock 1945. — FLAHAULT, CH.: Recherches sur l'accroissement terminal de la racine chez les Phanérogames. Ann Sci. nat. Bot. **6** (1878). — FLEISCHER, E.: Beiträge zur Embryologie der Monokotylen und Dikotylen. Flora (Jena) **1874**. — GUTTENBERG, H. v.: Der primäre Bau der Angiospermenwurzel. Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. 8, Abt. II, Teil 3. Berlin 1940. — Studien über die Entwicklung des Wurzelvegetationspunktes der Dikotyledonen. Planta (Berl.) **35** (1947). — HABERLANDT, G.: Physiologische Pflanzenanatomie. Leipzig 1909. — HANSTEIN, J. v.: Die Entwicklung des Keimes der Monokotylen und Dikotylen. Bot. Abh. Morph. u. Physiol. Bonn **1** (1870). — HEGELMAIER, F.: Die Lemnaceen. Leipzig 1868. — HOLLE, H. G.: Über den Vegetationspunkt der Angiospermenwurzel, insbesondere die Haubenbildung. Bot. Ztg **34** (1876). — JANCZEWSKI, E. DE: Recherches sur l'accroissement terminal des racines dans les Phanérogames. Ann. Sci. nat. **20** (1874). — KROLL, G. H.: Kritische Studien über die Verwertbarkeit der Wurzelhaubentypen für die Entwicklungsgeschichte. Beih. Bot. Cbl. **28**, 1 (1912). — MEYER, L.: Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Bromeliaceenwurzeln. Planta (Berl.) **31** (1940). — NÄGELI, C.: Amtlicher Bericht der 50. Verslg. Dtsch. Naturforscher u. Ärzte, München 1877. — NÄGELI, C., u. H. LEITGEB: Entstehung und Wachstum der Wurzeln. Beitr. wiss. Bot. **1868**, H. 4. — NEUMANN, O.: Über die Bildung der Wurzelhaube bei *Juglans*, *Mimosa* und *Lupinus*. Planta (Berl.) **30** (1939). — PRANTL, K.: Untersuchungen über die Regeneration des Vegetationspunktes an Angiospermenwurzeln. Arb. bot. Inst. Würzburg **1** (1874). — REINKE, J.: Untersuchungen über die Wachstumsgeschichte und Morphologie der Phanerogamenwurzel. Bot. Abh. Morph. u. Physiol. Bonn **3** (1871). — SCHNARF, K.: Embryo-

logie der Angiospermen. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. II, Teil 2. Berlin 1929. — SCHÖNLAND, S.: The apical meristem in the roots of Pontederiaceae. Ann. of Bot. 1 (1887/88). — SCHÜEPP, O.: Untersuchungen über Wachstum und Formwechsel in Vegetationspunkten. Jb. Bot. **57** (1916). — Meristeme. In Handbuch der Pflanzenanatomie, B. 4, Abt. 1, Teil 2 Histologie. Berlin 1926. — SCHWENDENER, S.: Über das Scheitelwachstum der Phanerogamenwurzeln. Sitzgsber. berl. Akad. Wiss. 1881. — TIEGHEM, PH. VAN, et DOULIOT: Recherches comparatives sur l'origine des membres endogènes. Ann. Sci. nat. Bot. 8 (1888). — TREUB, M.: Le meristème primitif de la racine dans les Monokotylédones. Leiden 1876. — WAGNER, N.: Über die Entwicklungsmechanik der Wurzelhauben und des Wurzelrippenmeristems. Planta (Berl.) **30** (1939). — WILLIAMS, B. C.: The structure of the meristematic root tip and origin of the primary tissues in the roots of vascular plants. Amer. J. Bot. **34** (1947).

Prof. Dr. H. VON GUTTENBERG, (3) Seestadt Rostock, Doberaner Str. 143 (Botanisches Institut der Universität).

Planta, Bd. 40, S. 199–253 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn.

STOFFWECHSEL UND MINERALSALZERNÄHRUNG EINZELLIGER GRÜNALGEN.

I. Mitteilung.

1. VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN AN MANGELKULTUREN VON ANKISTRODESMUS.

Von

ANDRÉ PIRSON, CORNELIE TICHY und GERDA WILHELMI.

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. April 1951.)

I. Einleitung.

Vor längerer Zeit wurde mit Hilfe von *Chlorella*-Kulturen die Auffassung experimentell begründet, daß die Untersuchung von Veränderungen in der Leistungsfähigkeit des photosynthetischen und respiratorischen Gasaustausches bei einsetzendem und zunehmendem Mineralsalzmangel geeignet ist, an primäre oder spezifische Angriffspunkte mineralischer Faktoren in vivo heranzuführen (PIRSON 1937, 1939). Zur stoffwechselphysiologischen Analyse von Mineralsalzmangelerscheinungen wurde dabei auch das Verhalten des Gaswechsels in den ersten Phasen der Erholung von Mangelzuständen verschiedenen Grades herangezogen.

Die früheren Arbeiten, welche sich auf Kalium-, Stickstoff- und Manganmangel beschränkten, bedürfen in verschiedener Hinsicht einer Ergänzung, zunächst besonders durch Einbeziehung weiterer mineralischer Faktoren. Aufgabe der vorliegenden Veröffentlichung ist es daher, das stoffwechselphysiologische Verhalten einer einzelligen Protococcale bei Vorliegen eines Defizits an Kalium, Phosphor, Magnesium, Eisen und Mangan zu beschreiben und danach in vergleichender Auswertung zu versuchen, verschiedene Typen des Mineralsalzmangels herauszuarbeiten. Einige die Photosynthese betreffende Versuchsdaten sind an anderer Stelle bereits vorläufig mitgeteilt worden (PIRSON und WILHELMI). Mit dem Verhalten der Algen bei Stickstoffmangel, bei dem eine Reihe von Spezialfragen zu erörtern ist, wird sich eine demnächst folgende Publikation befassen.

Da im Interesse einer Aufdeckung allgemeiner Gesetzmäßigkeiten die dauernde Beschränkung auf Einzeller von *Chlorella*-Typ unerwünscht erscheint, haben wir Untersuchungen mit ähnlicher Fragestellung an zwei anderen Objekten von höherem, aber untereinander durchaus verschiedenem Zellbau unternommen, die jedoch beide auf Grund ihrer einfachen Gesamtorganisation ebenfalls die großen

Vorteile einer genau kontrollierbaren Anzucht bieten und eine relativ störungsfreie Stoffwechselmessung gestatten. Es handelt sich um *Hydrodictyon reticulatum*, über dessen Untersuchung an anderer Stelle von O. Neeb berichtet wird, und um *Lemna minor*. Im Unterschied zu den kleinzelligen Protococcalen besteht bei diesen beiden Objekten die Möglichkeit, den Stoffwechselmessungen auch genauere mikroskopisch-protoplasmatische Beobachtungen zuzuordnen. Erste diesbezügliche Erfahrungen an *Lemna* sind kürzlich mitgeteilt worden (Pirson und Seidel).

II. Versuchsmaterial und Methoden.

Die in der vorliegenden Arbeit ausschließlich verwendete Alge gehört der Gattung *Ankistrodesmus* an. Wir rechnen sie zu der Sammelart *A. falcatus* (Ralfs) (= *Raphidium* Kützing), obwohl ihre Zellmaße eher der von Brunnthaler beschriebenen, nach Pascher jedoch unsicheren Spezies *A. Braunii* entsprechen. Die starke Variabilität der Zellgröße erschwert offenbar bei *Ankistrodesmus*-Arten die genaue systematische Kennzeichnung. Verwendet wurde ein in üblicher Weise auf Knop-Agar steril gezogener Klon, dessen Zellen beim Ansetzen der Normal- und Mangelanzucht nach gründlichem Waschen mit Aqua bidest. in Nährlösung übertragen wurden. Die Impfmenge wurde gering und jeweils gleich groß gewählt, so daß in der Anzuchtanlage nach 5 Tagen das erste äußerlich sichtbare Zeichen des Bewuchses auftrat, und vom 7. Tage an mit der Wachstumsmessung durch Trockengewichtsbestimmung begonnen werden konnte.

Vor den uns zur Verfügung stehenden *Chlorella*-Stämmen zeichnet sich der *Ankistrodesmus*-Klon durch hohe Teilungsgeschwindigkeit aus; vor allem aber wurde niemals, also auch nicht in älteren Kulturen, eine sichtbare Verunreinigung durch Bakterien beobachtet. Das antibiotische Prinzip, das nach Pratt in *Chlorella*-Kulturen wirksam ist, scheint hier besonders stark ausgebildet zu sein. Das bei *Chlorella* oft lästige Schäumen trat erst sehr spät ein. Ebenso wurden tote Zellen nur in sehr alten Kulturen festgestellt, die für unsre Messungen nicht mehr in Betracht kamen. Sicherheitshalber wurden alle Nährlösungen vor dem Beimpfen sterilisiert, in der weiteren Anzucht konnte auf Sterilhaltung verzichtet werden. Für die Wahl von *Ankistrodesmus* war ferner bestimmend, daß er bei seiner langgestreckten Zellform im Mangelzustand morphologische Veränderungen deutlicher erkennen läßt als die kugeligen Zellen von *Chlorella*.

Die Normalnährlösung wurde in Anlehnung an Alberts-Dietert angesetzt, meist mit Nitrat, in einigen Fällen auch mit Ammonsalz als Stickstoffquelle.

Nitratnährlösung: KNO_3 0,80, NaCl 0,47, $CaCl_2$ 0,01, $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ 0,25, $Na_2HPO_4\ 2\ H_2O$ * 0,18, $NaH_2PO_4\ 2\ H_2O$ ** 0,45, $FeSO_4\ 7\ H_2O$ 0,01, $ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$ 0,0013, $MnCl_2\ 4\ H_2O$ 0,0002 g pro Liter aqua bidest. p_H 5,5—6,0.

* Präparat Riedel-de Haan (Berlin). — ** Präparat Merck (Darmstadt).

Ammonnährlösung: NH_4Cl 0,43 (an Stelle von KNO_3), KCl 0,61 (statt NaCl), sonst wie oben.

Ein geringer Gehalt der Nährlösung an Calciumionen ist nach unseren Erfahrungen (vgl. auch STEGMANN) zulässig und erforderlich, wenn mit Sicherheit das Auftreten kristalliner Niederschläge während des Wachstums der Algen vermieden werden soll, die eine Wachstumsmessung durch Trockengewichtsbestimmung natürlich unmöglich machen würden. Daß solche Ausscheidungen (besonders von Calciumphosphat) im Verlauf der Kultur nicht auftraten, wurde nicht nur durch visuelle Kontrolle, sondern auch durch Aschenbestimmung des Algenzentrifugats junger und älterer Zellsuspensionen sichergestellt. Eine starke p_H-Erhöhung der Nitratkulturen oder ein p_H-Abfall in Ammonkulturen mit zunehmendem Algenwachstum war durch die Phosphatpufferung vermieden; jedoch war die Kapazität des Puffers so niedrig gewählt, daß die Suspensionen vor der Stoffwechselmessung, die stets *in der Anzuchtlösung* erfolgte, leicht auf den hierfür erforderlichen p_H-Wert von 4,5 eingestellt werden konnten (s. unten). Die Mangellösungen wurden durch partiellen oder völligen Ersatz des betreffenden Faktors durch ein anderes indifferentes Ion hergestellt. Einzelheiten hierzu sind jeweils im Versuchsteil verzeichnet.

Die zur Erkennung und genaueren Kennzeichnung des Mangelzustandes vor oder neben den Stoffwechselbestimmungen auszuführenden Wachstumsmessungen erfordern eine Anzucht unter konstanten Bedingungen.

Die in Abb. 1 dargestellte Anzuchtanlage ermöglicht die Anzucht im kontinuierlichen Licht bei gleichbleibender Temperatur (20° C). Durch die Kombination einer Schüttelbewegung mit dem Durchleiten von Luft (etwa 5 Vol.-% CO_2) wird das sonst schwer vermeidbare Sedimentieren eines Teils der Algen verhindert, so daß für alle Zellen einer Kultur ein durchschnittlich gleicher Lichtgenuß gewährleistet ist. Die Schüttelbewegung der im Kreis um die Lichtquelle angeordneten Kulturkolben (Jenaer Geräteglas „20", 500 cm^3) macht ein eigenes Rührwerk für das Wasserbad überflüssig. Die Lichtquelle (300-Watt-Lampe) lieferte bei der gewählten Entfernung der Kolben eine Beleuchtungsstärke von 700—800 Lux. Dieser relativ niedrige Wert wurde gewählt, um Schwachlichtzellen zu erhalten, die bei einer verhältnismäßig geringen Belichtung bereits den Sättigungswert der Photosynthese erreichen [vgl. SARGENT, MYERS (1), WINOKUR]. Zellen dieser Art sind verhältnismäßig chlorophyllreich, worauf schon WARBURG und NEGELEIN (1) hingewiesen haben. Unsere Anzuchten enthielten daher erheblich mehr Pigment als die von uns früher benutzten, bei fast doppelter Beleuchtungsstärke angezogenen. *Chlorella*-Kulturen.

Wachstumsmessungen wurden durch Ermittlung des Trockengewichts ausgeführt. In meist 24stündigem Abstand wurden vom 7. Kulturtage ab Proben der Kulturlösungen von der Anzuchtanlage entnommen. Da stets Parallelkolben angesetzt waren, wurde deren Inhalt vor der Probeentnahme zum Ausgleich kleiner Wachstumsdifferenzen gemischt und zugleich der Verdunstungsverlust durch Zugabe einer entsprechenden Menge Aqua bidest. ersetzt. Bei Neuverteilung der Suspension auf die Anzuchtkolben wurde stets darauf geachtet, daß die Flüssig-

keitsmenge je Kolben annähernd gleich blieb, weshalb die Zahl der Parallelkulturen im Verlauf der Anzucht verringert werden mußte. Bei dichteren Suspensionen genügten zur Bestimmung von Trockengewicht und Chlorophyll Proben von etwa 10 cm³. Die Suspensionen wurden durch Glasfiltertiegel (Schott Nr. 63a G 3, 8 cm³) mit Asbestauflage filtriert, der Algenrückstand (3—6 mg) gewaschen und bei 105° C getrocknet.

Eine Bestimmung der Lichtdurchlässigkeit der Suspensionen, die uns früher (wie neuerdings auch RODHE) zur Wachstumsmessung diente, haben wir in der vorliegenden Arbeit nicht vorgenommen.

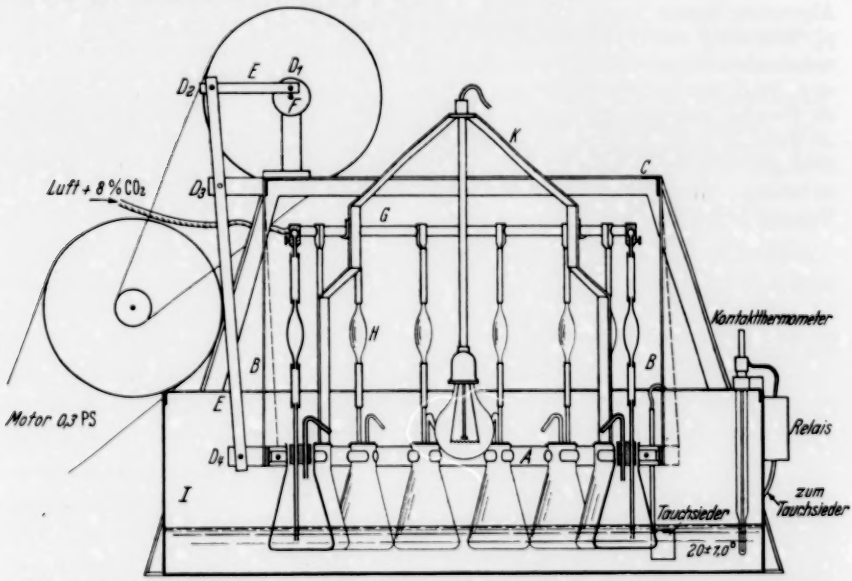


Abb. 1. Anlage zur Kultur einzelliger Algen unter konstanten Bedingungen (im Schnitt) (vgl. Text). *A* Ring mit Klemmen zum Befestigen der Kulturkolben; *B* Stahlbänder zur Aufhängung von *A*; *C* Aufhängegestell; D_{1-4} Drehpunkte der Übertragungshebel *E*; *F* Exzenterscheibe auf der Achse des hinter dem Wasserbad (*I*) befindlichen Riemenscheibenantriebs; *G* ringförmiges Rohr aus Kunststoff (Igelit) mit 12 Hähnen zur Versorgung der Kulturkolben mit Gasmischung; *H* Glasoliven mit Wattefüllung; *I* Temperaturkonstantes Wasserbad; *K* mitbewegte Lampenhalterung, auf *A* montiert.

Zellzahlen können in Anbetracht der Veränderlichkeit der Zellgröße nicht als einwandfreies Wachstumsmaß dienen. Vergleichszählungen zur Trockengewichtsbestimmung (Zählkammer nach THOMA) ergeben jedoch Anhaltspunkte für Divergenzen zwischen Teilungsrate und Substanzproduktion. Die in solchen Fällen eintretenden Größenveränderungen der Zellen wurden durch Aufzeichnung mit Hilfe des Projektionsmikroskops festgehalten.

Die *Chlorophyllbestimmung* erfolgte nach Extraktion mit Methylalkohol bei Zimmertemperatur im lichtelektrischen Kolorimeter nach HAVEMANN. Bei Verwendung eines kombinierten Rot-Gelbfilters kann die Messung im Rohextrakt vorgenommen werden, was durch Zusatz von Carotinoiden zum Eichchlorophyll (a + b, nach WILLSTÄTTER und STOLL aus Brennesseln hergestellt) geprüft wurde.

Manometrische Meßmethodik. Die manometrischen Messungen wurden teils nach der sog. direkten Methode (Druckänderung durch ein Gas,

bzw. Verwendung je eines Manometers), oft aber auch im „indirekten" Verfahren (2 Manometer je Messung) ausgeführt, da vielfach der Gaswechselquotient ermittelt werden mußte. Auf die Angabe der hier einschlägigen Berechnungsformeln kann im einzelnen verzichtet werden, zumal sie neuerdings von WARBURG und BURK ausführlich zusammengestellt und auch von UMBREIT, BURRIS und STAUFFER wiedergegeben sind. Zur Vermeidung von Mißverständnissen sei darauf hingewiesen, daß der in den Formeln verwendete Gaswechselquotient γ nur mit dem respiratorischen Quotienten $RQ = -\frac{CO_2}{O_2}$ identisch ist. Für die Photosynthese verwenden wir aus später darzulegenden Gründen den reziproken Wert $PQ = -\frac{O_2}{CO_2}$. Im Interesse größerer Anschaulichkeit haben wir im Text das negative Vorzeichen von RQ und PQ vernachlässigt. Eine Veränderung von PQ von —1,0 auf —1,2 wird also „Anstieg" des Quotienten genannt. Da oft geringe Quotientenänderungen zu bestimmen waren, mußte die Meßgenauigkeit durch eine Anzahl von Parallelbestimmungen erhöht werden. Zur Durchführung von Versuchsreihen mit mehreren Mangelstufen standen uns im Höchstfall 42 Manometer gleichzeitig zur Verfügung. Die wiedergegebenen Meßwerte stellen stets den Durchschnitt aus mehreren (3—4) Parallelbestimmungen (bei Quotientenmessungen also 6—8 Manometerablesungen) dar. Die „indirekte" Methode kam in 2 Ausführungen zur Anwendung: a) bei Atmungsbestimmungen zum Teil mit 2 Gefäßen, mit und ohne KOH im Einsatzstutzen (im folgenden als $\pm$ KOH-Methode bezeichnet); b) bei Photosynthesemessungen stets mit Hilfe zweier verschieden großer Manometergefäße und gleicher Suspensionsmenge (Gefäßdifferenzmethode = GD-Methode). Eine andere Modifikation des Verfahrens, die Verwendung gleichgroßer Gefäße und verschiedener Flüssigkeitsmengen (bei gleicher Zellzahl) ist nach unseren Erfahrungen aus verschiedenen Gründen für Photosynthesebestimmungen ungeeignet.

Nicht überflüssig erscheint uns ein Hinweis auf die große Bedeutung der Wahl geeigneter Volumverhältnisse bei der Anwendung der GD-Methode. Die Beziehung zwischen dem Gaswechselquotienten γ und dem Verhältnis der an beiden Manometern abgelesenen Drucke h/H, welche man durch Umformung der WARBURGschen Gleichung erhält, wird durch die exzentrische Hyperbel

$$\gamma = \frac{\frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}} - \frac{h}{H} \cdot \frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}}}{\frac{h}{H} \cdot \frac{k_{CO_2}}{K_{CO_2}} - 1}$$

ausgedrückt. Ihre Lage variiert mit der Größe der Gefäßkonstanten. Diese müssen so gewählt werden, daß in dem zu erwartenden Bereich von γ eine ausreichende Meßgenauigkeit gegeben ist. Unsicher werden die Messungen außerhalb des

Bereichs stärkerer Hyperbelkrümmung, sowie bei Annäherung eines der Druckwerte h oder H an Null, weil dann Meßfehler das Rechenergebnis stark beeinflussen. Wir benutzten Manometergefäßpaare von annähernd 30 und 22 cm³ Gesamtinhalt und ein Suspensionsvolumen von 8 cm³. Damit werden im γ-Bereich von —0,6 bis —1,3 Messwerte erhalten, durch welche bei jeweils 3 Parallelbestimmungen selbst geringe γ-Differenzen mit Sicherheit erfaßt werden. In der Nähe von $\gamma = -1$ sind nach unseren Erfahrungen z. B. noch Unterschiede von $\pm$ 0,03 gut meßbar.

Belichtet wurde bei den Photosynthesemessungen mit 2 unmittelbar über den innen weiß lackierten Thermostaten aufgehängten Lampen von je 500 Watt. In Höhe der Manometergefäße zeigte ein Unterwasserbeleuchtungsmesser 8000 Lux an. Dieser Wert liegt bei unseren Anzuchtbedingungen auch für jüngere Kulturen bereits im Lichtsättigungsbereich der Photosynthese, was durch Einschalten zusätzlicher Beleuchtung festgestellt wurde. Kleine Differenzen in der Ausleuchtung der Suspensionen machen sich unter diesen Bedingungen also nicht bemerkbar. Schwieriger werden die Messungen innerhalb des photosynthesebegrenzenden Bereichs der Beleuchtungsstärke. Da die wünschenswerte gleichzeitige und gleichmäßige Belichtung zahlreicher Manometergefäße von unten her aus technischen Gründen bei uns bisher nicht durchführbar war, mußten auch in diesem Falle die Lichtquellen oberhalb des Thermostaten angebracht werden. Bei hochgezogenen Lampen wurde durch Einschalten eines Schirms aus weißem Mattpapier die Beleuchtungsstärke in Höhe der Manometergefäße auf etwa 60 Lux eingestellt. Damit ist jedoch noch keine Gewähr für eine gleichmäßige Ausleuchtung der Algensuspensionen durch das Oberlicht gegeben, vielmehr eine zusätzliche Lichttestung der Manometerplätze erforderlich. Hierzu wurde zunächst mit großen und kleinen Manometergefäßen und je 8 cm³ Flüssigkeit die Photooxydation von Allylthioharnstoff in Pyridin mit Äthylchlorophyllid als Sensibilisator nach der Vorschrift von Warburg und Schocken benutzt. Durch schwaches Schattieren einzelner Bereiche war es möglich, in 12 Manometern eines Apparats gleichen O_2-Verbrauch einzustellen. Da das Verfahren in dieser Form noch nicht volle Sicherheit gibt (vgl. Warburg und Burk, S. 424) wurde der photochemischen Testung noch eine biologische angeschlossen, indem mit derselben Manometerkombination und Flüssigkeitsmenge die photosynthetische O_2-Produktion von Algen im Karbonat-Bikarbonatpuffer gemessen wurde[1]. Hierbei ergab sich nach der Vortestung bei 12 Manometern eines Thermostaten gute Übereinstimmung. Bei den anschließenden Messungen der Photosynthese im Schwachlicht nach der GD-Methode wurde die bei der Testung gewählte Manometerkombination und -anordnung eingehalten. Obwohl wir nach diesem Verfahren bei Parallelmessungen befriedigend übereinstimmende Daten erhielten, halten wir grundsätzlich die Ver-

[1] Dies Verfahren haben kürzlich auch Burk und Warburg [Z. f. Naturforschg 6b, 12 (1951)] benutzt.

suchsbeleuchtung der Algen im Schwachlicht noch für verbesserungsbedürftig.

Besonderer Wert muß bei den Stoffwechselmessungen auf die Einhaltung eines niedrigen p_H-Werts gelegt werden, wodurch eine Komplikation des Gaswechsels durch CO_2-Retention (Bikarbonatbildung) vermieden wird. Zu diesem Zwecke wurden die Anzuchtlösungen vor der Photosynthesemessung zentrifugiert, in Abwesenheit der Algen mit verdünnter H_3PO_4 auf p_H 4,2—4,5 eingestellt und die Algen darin in der gewünschten Verdünnung wieder aufgenommen. Bei anschließenden sehr langfristigen Photosyntheseversuchen wurde im Grenzfall der p_H-Wert 5,2 erreicht. Gewöhnlich blieb die H-Ionenkonzentration unter p_H 5, weil die reichliche Phosphatmenge eine von p_H 4,5 aufwärts zunehmend leistungsfähige Pufferwirkung entfaltet. Hohe Phosphatkonzentrationen bis zu $m/25$ werden von den Algen ohne Schädigung vertragen (vgl. ALBERTS-DIETERT). Zur Kontrolle wurde mehrfach nach langfristigen Photosynthesemessungen durch Einkippen von Trichloressigsäure oder Schwefelsäure aus der Ansatzbirne auf Abwesenheit von Bikarbonationen geprüft.

III. Wachstum und Stoffwechsel von Normalzellen.

Wachstum und Chlorophyllproduktion von Kulturen in kompletter Nährlösung bedürfen nach den in Abschnitt II gemachten Ausführungen keiner ausführlichen Darstellung. Die entsprechenden Daten findet man jeweils in den Diagrammen für die verschiedenen Mangelanzuchten als Kontrollwerte angegeben.

Die Trockengewichtsproduktion der Normalkontrollen hatte bei Abschluß unsrer Anzuchten ihren Endwert noch längst nicht erreicht. Wir haben die Kultur der Algen nicht über den 20. Tag ausgedehnt, weil bis zu diesem Zeitpunkt mit Sicherheit weder in Normalkulturen, noch in Mangelanzuchten tote Zellen oder Kristallbildungen auftraten, welche die Trockengewichtsbestimmung illusorisch gemacht hätten. Die Kulturdauer reichte zudem unter den gewählten Bedingungen völlig aus, um Mangelerscheinungen auftreten und in zunehmendem Maße deutlich werden zu lassen; gerade der Beginn der Mangelerscheinungen war für uns von wesentlichem Interesse. Im Laufe der Normalanzucht wird regelmäßig am Trockengewicht ein steilerer Anstieg beobachtet als bei den Zellzahlen. Diese Divergenz findet ihren Niederschlag in einer Vergrößerung der Zellen. Das Zellvolumen beträgt z. B. in einer 18 Tage alten Normalkultur 54 μ^3, in einer 23 Tage alten Kultur 138 μ^3 (vgl. entsprechende Angaben von SARGENT für *Chlorella*). Die Substanzneubildung ist also beim Altern einer Kultur nicht so stark betroffen wie die Zellteilungsrate. Mineralsalzmangel ist nicht die Ursache dieser Erscheinung, sondern wahrscheinlich das von PRATT und von SPOEHR

und Mitarbeitern näher untersuchte Hemmprinzip, das aus Zellausscheidungen in der Kulturlösung auf oxydativem Wege entwickelt wird. Bemerkenswert ist die Zunahme des Chlorophyllgehaltes pro Trockengewicht in den ersten Tagen der Kultur, ein Ausdruck für die Schwachlichtanpassung mit zunehmender Suspensionsdichte. Der Chlorophyllgehalt bleibt danach während der von uns gewählten Kulturdauer annähernd konstant. Daraus ist ersichtlich, daß in den Normalkulturen kein Stickstoffmangel eintrat, was wir auch auf andere Weise geprüft haben (vgl. die folgende Mitteilung).

Das stoffwechselphysiologische Verhalten von Normalkulturen erfordert einleitend eine genauere Untersuchung in zweierlei Hinsicht:

1. Photosyntheseleistung im Starklicht bei verschiedenem Kulturalter (Suspensionsdichte).

2. Vergleich der Photosynthese in Anzuchtlösung bei p_H 4,5—5,0 und in K_2CO_3-$KHCO_3$-Puffer (entsprechend dem Gemisch Nr. 9 nach Warburg).

In Abb. 2a ist die unter der oft gemachten Annahme eines *PQ* von 1 berechnete O_2-Produktion (erhalten aus den Druckwerten von Einzelgefäßen) vergleichsweise zusammengestellt mit den Werten für die O_2-Abgabe *und* CO_2-Aufnahme, die nach der indirekten Methode mit Gefäßpaaren bestimmt worden waren, und zwar für 3 verschiedene Altersstufen einer Kultur. Dabei sind die jeweiligen *PQ*-Werte verzeichnet. Man erkennt deutlich den beträchtlichen Abfall der apparenten Photosynthese mit zunehmendem Kulturalter der bei Schwachlichtanzuchten im Starklicht besonders ausgeprägt ist (vgl. dazu auch Winokur, der ausführliche Literaturangaben zu dieser Frage macht). Zugleich wird deutlich, welch erhebliche Fehler in den Absolutwerten der Photosyntheseleistung bei Nichtbeachtung der jeweils vorliegenden Gaswechselquotienten unterlaufen können. Der Absolutwert für die O_2-Abgabe der jungen Kultur (7 Tage alt) wird dabei um rund 30% zu hoch erhalten. Auch der zeitliche Verlauf der Photosyntheseleistung kann erheblich verfälscht sein. Der scheinbare Anstieg der Photosynthese ist im vorliegenden Fall lediglich eine Folge der Zunahme des Photosynthesequotienten *PQ*. In Wirklichkeit zeigt die Photosynthese innerhalb der ersten Stunden eine leichte Depression; diesen Effekt haben wir an jungen Kulturen normaler Aufzuchten und schwacher Mangelbereiche oftmals beobachtet und halten ihn daher für gesichert. Bei älteren Kulturen liegt der *PQ* für längere Zeit nahe an 1; daher bestehen hier weniger Bedenken gegen die Photosynthesebestimmung mit je einem Manometer (direkte Methode). Nach den Erfahrungen von Myers (3) und eigenen Messungen (Pirson und Wilhelmi 1950, sowie folgende Mitteilung) ist die Erhöhung des *PQ* in erster Linie eine Folge der Nitratreduktion und -assimilation im Zuge der Substanz-

neubildung (Defizit der apparenten CO_2-Aufnahme infolge Extrakohlensäureausscheidung). Daß der *PQ* in Algenkulturen vielfach etwas über 1 liegt, ist eine alte Erfahrung (vgl. besonders WARBURG und NEGELEIN, VAN DEN HONERT und auch neuerdings WARBURG und BURK). Sie ist in unserem Falle nicht vorgetäuscht durch eine CO_2-Retention, da eine Erhöhung des p_H-Werts in den Retentionsbereich streng vermieden wurde.

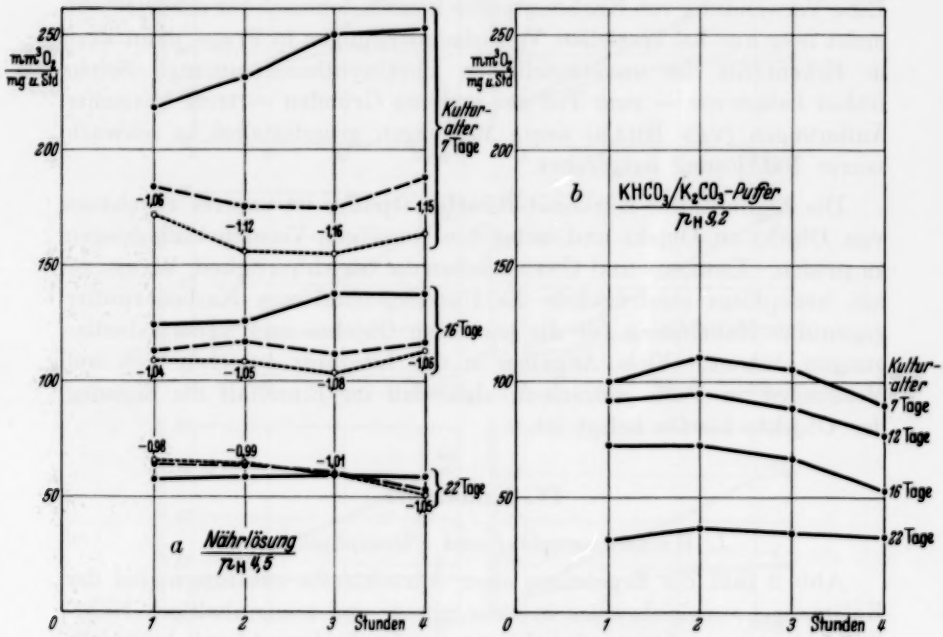


Abb. 2 a u. b. a Photosynthese von *Ankistrodesmus* (Schwachlichtanzucht) in gepufferter Nährlösung (p_H 4,5) in Abhängigkeit vom Kulturalter. 8000 Lux (Sättigungsintensität). ●——● O_2-Abgabe, mit $\gamma = -1$ berechnet; Gefäßvolumen um 30 cm³, Suspensionsvolumen 8 cm³;
●— — ● O_2-Abgabe
○- - - - ○ CO_2-Aufnahme
} nach der GD-Methode; Gefäßvolumina um 30 und 22 cm³, Suspensionsvolumen 8 cm³.
Neben den Meßpunkten die jeweils ermittelten Werte für *PQ*. Die Werte einer 12tägigen Kultur wurden der Übersichtlichkeit halber weggelassen. Sie liegen zwischen denen der 7 Tage und der 16 Tage alten Kultur. b Photosynthese des Materials der Abb. 2a in Karbonatpuffer (p_H 9,2) in Abhängigkeit vom Kulturalter.

Messungen an Normalaufzuchten, die zu verschiedenen Jahreszeiten angesetzt waren, ergaben grundsätzlich das gleiche Verhalten. Lediglich die Absolutwerte von Trockensubstanzproduktion, Chlorophyllgehalt und Photosynthese im Starklicht waren trotz konstanter Kulturbedingungen nicht mit Exaktheit zu reproduzieren. Abweichungen im Bereich von 10—20% mußten in Kauf genommen werden. Ob hier jahresperiodische Schwankungen in Betracht kommen, die schon bei etwas höher organisierten Algen (*Hydrodictyon*, NEEB) oder Wasserlinsen (H. L. WHITE, PIRSON und SEIDEL) unter Umständen eine bedeutende Rolle spielen, muß genauer geprüft werden.

Abb. 2b gibt Photosynthesemessungen im üblichen $\frac{m}{15}$-$KHCO_3$-K_2CO_3-Puffer (p_H 9—9,5) wieder, die mit den Algen der Abb. 2a bei gleicher Suspensionsdichte ebenfalls im Starklicht (Lichtsättigung) ausgeführt sind. Die beträchtliche Verminderung der O_2-Abgabe im Puffer ist ebenso unverkennbar, wie eine mit der Versuchszeit zunehmende Verstärkung der Hemmung. In der 2. Versuchsstunde beträgt die Pufferhemmung bei den 7tägigen Kulturen 30%, bei den 22tägigen 40%. Eine Verwendung von Karbonatpuffer kommt demnach für unser Objekt nicht oder nur bei speziellen Versuchsanstellungen in Frage, dann aber in Erkenntnis der unvermeidlichen Photosynthesehemmung. Schon früher haben wir — zum Teil aus anderen Gründen — trotz kritischer Äußerungen (VAN HILLE) unsre Messungen grundsätzlich in schwach saurer Nährlösung ausgeführt.

Die Eignung der Karbonat-Bikarbonatpuffer ist unseres Erachtens von Objekt zu Objekt und unter den jeweiligen Versuchsbedingungen zu prüfen. EMERSON und GREEN haben die Gleichwertigkeit, WARBURG hat neuerdings ausdrücklich die Unterlegenheit von Karbonatpuffer gegenüber Nährlösung für die jeweiligen Objekte und Versuchsbedingungen betont. Viele Angaben in der Literatur beziehen sich auf Messungen in Puffergemischen, ohne daß im Einzelfall die Eignung der Objekte hierfür belegt ist.

IV. Kalimangel.

1. Wachstumsverlauf und Chlorophyllbildung.

Abb. 3 faßt die Ergebnisse einer Anzuchtreihe zusammen, bei der Kalimangel vergleichsweise in einer nitrat- und ammonhaltigen Nährlösung hervorgerufen wurde. Die vergleichende Anzucht mit beiden N-Quellen diente dem Zweck, bereits durch die Kultur eine etwaige Sonderwirkung des Kaliums auf die Nitratverarbeitung (Aufnahme, Reduktion und Assimilation) aufzudecken, ein Verfahren, das schon ALBERTS-DIETERT zur Untersuchung von Fe- und Mn-Wirkungen verwendet hat. Die Lösungen waren auf einen Anfangs-p_H-Wert 6,0 eingestellt, der in den Normalkontrollen während des Wachstumsverlaufs nach 5 (Ammonkultur) und 7,5 (Nitratkultur) divergierte. Die Anfangskalimenge betrug 0,23 mg K/L, das ist etwa $^1/_{1000}$ des (reichlich bemessenen) Kaligehalts der Normalkultur. Als osmotischer Ersatz wurde die äquivalente Menge Natriumion geboten.

Der Eintritt des Kalimangelzustandes weist bei Nitrat- und Ammonernährung keine ins Auge springenden Unterschiede auf. Es zeigte sich jedoch immer wieder, daß die Verminderung der Trockengewichtszunahme bei den Ammonkulturen etwas früher hervortrat (10. Tag)

als bei den Nitratkulturen (12. Tag). Daß nach ARENZ bei ammonernährten höheren Pflanzen Kalimangelschäden verstärkt auftreten, sei in diesem Zusammenhang beiläufig erwähnt. — Die Zellzahl weist

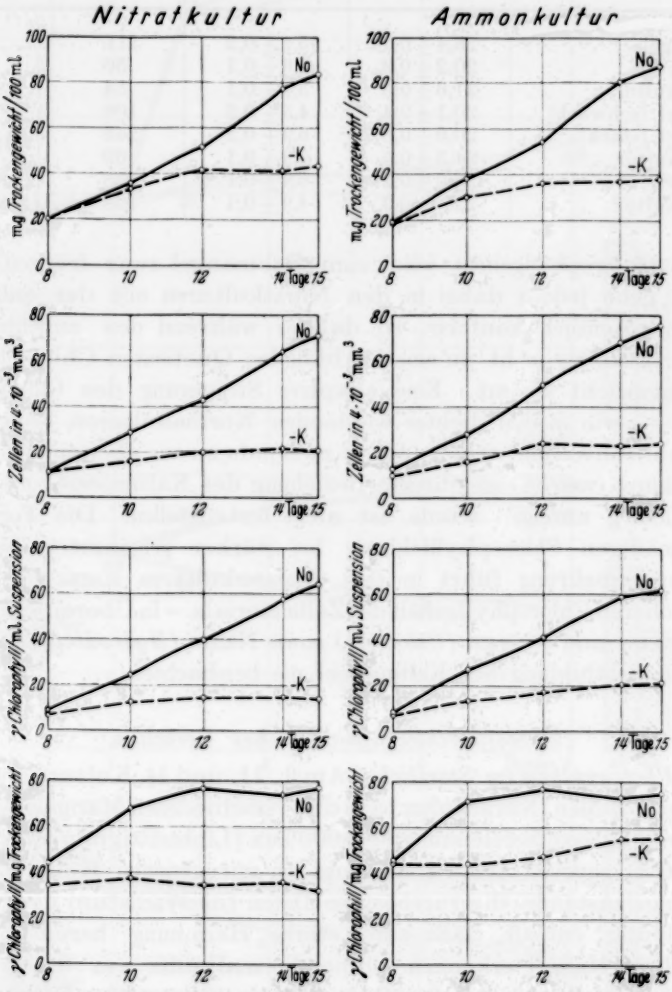


Abb. 3. Trockengewichtsproduktion, Zellvermehrung und Chlorophyllbildung von *Ankistrodesmus* bei Kalimangel und vergleichender Aufzucht in Nitrat- und Ammonnährlösung. No = Normalkultur (vgl. Abb. 7, 10, 12 und 14).

bei Kalimangel einen flacheren Anstieg auf als die Trockengewichtsproduktion. Dementsprechend nimmt — wie schon früher für *Chlorella* beschrieben [PIRSON (1)] — die Größe der Kalimangelzellen zu (vgl. Tabelle 1, die zugleich die Größen anderer Mangelzellen und Normalzellen verschiedenen Alters darstellt).

Tabelle 1. *Zellgrößen von Ankistrodesmus in Abhängigkeit von Kulturalter (Suspensionsdichte) und Mangelbedingungen.* (Zellinhalt als Doppelkegel berechnet.)

	Länge (μ)	Breite (μ)	Inhalt (μ^3)	Alter der Kulturen (Tage)
Mg-Mangel	$28{,}4 \pm 0{,}7$	$5{,}4 \pm 0{,}2$	216	18
Fe-Mangel.	$20{,}2 \pm 0{,}3$	$2{,}6 \pm 0{,}1$	36	
Normalkultur	$21{,}6 \pm 0{,}3$	$3{,}1 \pm 0{,}1$	54	
P-Mangel (schwach) .	$20{,}1 \pm 0{,}4$	$4{,}5 \pm 0{,}2$	106	20
P-Mangel (stark). . .	$20{,}0 \pm 0{,}6$	$6{,}9 \pm 0{,}2$	248	
Normalkultur	$24{,}3 \pm 0{,}5$	$3{,}3 \pm 0{,}1$	69	
K-Mangel	$23{,}0 \pm 0{,}2$	$6{,}8 \pm 0.1$	278	23
Normalkultur. . . .	$22{,}0 \pm 0{,}3$	$4{,}9 \pm 0{,}1$	138	

Der Chlorophyllgehalt wird vom Kalimangel zwar frühzeitig betroffen, geht jedoch dabei in den Nitratkulturen mit der Substanzzunahme ziemlich konform, so daß es während des zunehmenden Mangelzustandes nicht zu einem Abfall des Quotienten Chlorophyll — Trockengewicht kommt. Eine adaptive Steigerung des Chlorophyllgehalts — wie in den dichter werdenden Normalkulturen beim Übergang zum Schwachlichttyp — bleibt zwar nahezu aus, aber eine Chloroseverstärkung, welche eine direkte Beziehung des Kaliumions zur Chlorophyllbildung anzeigen würde, ist nicht festzustellen. Die Fortdauer einer mäßigen Chlorophyllbildung bei stärker gehemmter Trockensubstanzvermehrung führt in den Ammonkulturen sogar zu einem etwas höheren Chlorophyllgehalt des Zellmaterials. — In Übereinstimmung mit SPOEHR und MILNER *(Chlorella)* sowie NEEB *(Hydrodictyon)* haben wir eine Fettbildung bei Kalimangel nie beobachtet.

2. Stoffwechselphysiologisches Verhalten.

a) Photosynthese im Starklicht. Am 9., 11. und 14. Kulturtag wurden Kalimangelzellen (Nitratkultur) aus drei verschiedenen Mangelanzuchten auf ihre Photosyntheseleistung bei 8000 Lux (Lichtsättigung für Normalanzuchten) geprüft. Abb. 4, die zugleich zur genauen Kennzeichnung des Mangelzustandes die zugehörigen Daten für Wachstum und Chlorophyllbildung enthält, läßt eine starke Hemmung bereits bei beginnendem Mangel erkennen. Eine Normalkultur am 9. Tage entwickelt nach Abb. 1 die 2—3fache Menge Sauerstoff. Dabei ist in diesem Mangelstadium das Trockengewicht nur um etwa 10%, der Chlorophyllgehalt um 20% vermindert. Im Verlaufe der aus den Anzuchtdaten deutlich ersichtlichen Verstärkung des Kalimangels sinkt der Anfangswert der Photosynthese nur auffallend wenig weiter ab. Aus dem Fehlen einer Übereinstimmung zwischen Trockengewichtsproduktion in der Kultur und Photosynthese im Starklicht schließen wir, daß der große Unterschied zwischen Anzuchtbeleuchtung und

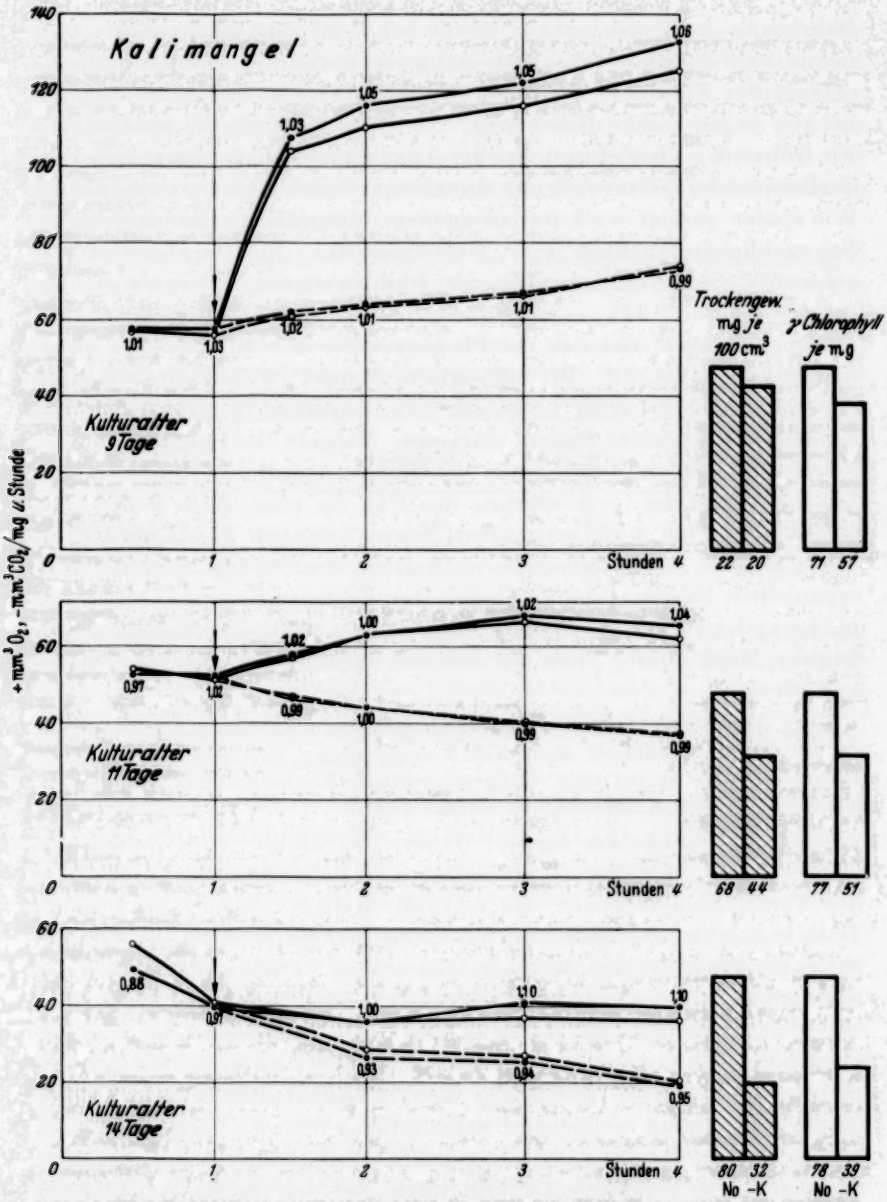


Abb. 4. Photosynthese von Suspensionen dreier Kalimangelstufen. An dem durch Pfeile gekennzeichneten Zeitpunkt wurde Kaliumchlorid in Normaldosis aus der Ansatzretorte zugegeben. Die Zahlen bei den Kurven sind die jeweils zugehörigen *PQ*-Werte. Punkte: O_2-Abgabe; Kreise: CO_2-Verbrauch; ausgezogene Linien: Photosyntheseverlauf vor und nach Kaligabe; gestrichelt: Kalifrei verbliebene Mangelkontrollen. Neben den Mangelstufen sind die Anzuchtdaten in Kolumnen vermerkt. Linke Säule jedes Paares: Normalkultur = 100. Die unter den Säulen vermerkten Zahlen geben die Absolutwerte von Trockengewicht und Chlorophyllgehalt pro Trockengewicht an (vgl. Abb. 8, 11, 13 und 15).

Belichtung im Photosyntheseversuch schon im Zustande geringen Kalimangels auf die Photosyntheseleistung von starkem Einfluß ist. Offenbar erzeugt der Kalimangel in den Schwachlichtzellen eine hohe Empfindlichkeit gegen starke Belichtung. An *Chlorella*-Kulturen beobachteten wir früher (l. c.) bei etwa doppelter Anzuchtlichtstärke einen mehr graduellen und der Zellvermehrung eher entsprechenden Photosyntheseabfall. Wie später gezeigt wird, ist bei anderen Mangelzuständen auch für die Schwachlichtaufzuchten von *Ankistrodesmus* eine stufenweise zunehmende Starklichthemmung der Photosynthese nachzuweisen (vgl. z. B. Abb. 8 und 11). — Bei geringen Unterschieden in der Anfangsleistung unterscheidet sich die Photosynthese der Mangelstufen jedoch im zeitlichen Verlauf. Bei schwachem Mangel (9. Tag) ist mit einem *PQ* von ziemlich genau 1,00 noch eine langsame Steigerung möglich, während die beiden Stufen stärkeren Mangels bei zunehmend vermindertem *PQ* in 4 Std einen deutlichen Abfall durchmachen. Als Erklärung für die Verminderung des *PQ*, die man auch bei anderen Mangelzuständen und sehr alten Normalkulturen in Anzuchtlösung findet, kommt eine Produktion von sauerstoffreichen Assimilaten (z. B. organischen Säuren) oder ein neben der Photosynthese einhergehender photooxydativer O_2-Verbrauch von geringem Ausmaß in Betracht. Die letztere Möglichkeit halten wir für die wahrscheinlichere (vgl. Myers und Burr).

Daß die 14tägige Kultur eine etwas geringere Substanzproduktion besitzt als die 11tägige, während nach Abb. 3 etwa gleiche Trockengewichtswerte zu erwarten wären, ist auf nicht völlig vermeidbare Wachstumsdifferenzen in zeitlich verschiedenen Kulturansätzen zurückzuführen.

In Anlehnung an eigene frühere Versuche (l. c.) haben wir während der Photosynthesemessung der Mangelkulturen einem Teil der Versuchssuspensionen das fehlende Kalium als KCl in normaler Dosis zugeführt. Bei geringem Kalimangel erfolgt sogleich der bekannte chlorophyllunabhängige Photosynthesesprung. Dieser führt zusammen mit dem flachen mehrstündigen Folgeanstieg zu einem Wert der O_2-Ausscheidung, welcher der Leistung von Normalkulturen, die man bei diesem Kulturalter mit etwa 160 mm^3 O_2/mg Std zu veranschlagen hat, nicht mehr erheblich nachsteht. Die Starklichthemmung der Photosynthese ist damit weitgehend aufgehoben. Wie wir auch in der vorliegenden Untersuchung oftmals geprüft haben, findet in der Versuchszeit keine Chlorophyllneubildung statt; bei den früher verwendeten Starklichtanzuchten von *Chlorella* war in ähnlichen Experimenten nach Stunden immerhin eine geringe Chlorophyllzunahme nachzuweisen. Die beiden Stufen stärkeren Mangels reagieren auf Kalizusatz erheblich schwächer; dieser reichte in der 14 Tage alten Kultur gerade noch aus, um den zeitlichen Abfall der Photosynthese hintanzuhalten. Auch

die Verminderung des *PQ*, die bei den kalifrei gehaltenen Kontrollen auftritt, ist durch die Kaligabe aufgehoben. — Im Fall des schwachen Mangels steigt der *PQ* im Erholungsverlauf etwas an. Nach Erfahrungen von MYERS, die wir mehrfach bestätigen konnten, handelt es sich um das manometrische Kennzeichen einsetzender Nitratassimilation. Es ist bemerkenswert, daß die Veränderung des *PQ* erst *nach* dem primären Photosynthesesprung deutlich erkennbar wird.

Zum Zwecke des späteren Vergleichs der verschiedenen Mineralsalzmangelzustände ist in Tabelle 2 die Photosynthese der Kalimangelstufen aus Abb. 4 in

Tabelle 2. *Photosynthese pro Chlorophyll* (mm^3 O_2/γ) *bei Kalimangel* (vgl. Abb. 4). (Bei Einkalkulation der Atmung würden sich die Zahlen unwesentlich erhöhen.) Die Werte gleichzeitig gemessener Normalkulturen lagen zwischen 1,7 und 2,3.

Mangelstufe	Vor Kaligabe	Nach halbstündiger Kaliwirkung	Maximalwert des Versuchs
Kalimangel 9 Tage . .	1,02	1,88	2,31
Kalimangel 11 Tage . .	1,02	1,14	1,34
Kalimangel 14 Tage . .	1,19	1,00	1,03

3 Versuchsphasen auf den Chlorophyllgehalt bezogen. Die Zahlen entsprechen den „Assimilationszahlen" von WILLSTÄTTER und STOLL (g CO_2/g Chlorophyll), die daraus bei Annahme eines *PQ* von 1 durch Multiplikation mit dem Faktor 2 erhalten werden. Unsre „Assimilationszahlen" liegen im allgemeinen relativ niedrig (bei Normalkulturen etwa bei 4), eine Folge der Schwachlichtanpassung bei der Anzucht [vgl. GESSNER (1)].

Ergänzend zu früheren Erfahrungen an *Chlorella* wurden auch einige Versuche an Kalimangelzellen in $NaHCO_3$-Na_2CO_3-Puffer (Nr. 9 nach WARBURG) durchgeführt. Hier wirkte bei *Ankistrodesmus* Kalizufuhr während des Versuchs nur langsam steigernd auf die Photosynthese ein. Dieser Unterschied gegenüber dem Verhalten von *Chlorella* (l. c.) ist aber offenbar kein prinzipieller, sondern lediglich darauf zurückzuführen, daß das Kaliumion im alkalischen Puffer mit Verzögerung an seinen Wirkungsort gelangt. Gibt man nämlich das fehlende Kalium der Kultursuspension im *Dunkeln* und überträgt nach 2—3 Std in Pufferlösung, so entwickelt mit beginnender Belichtung die vorbehandelte Kultur sogleich fast die doppelte O_2-Menge als die kalifrei verbliebene Kontrolle (Abb. 5). Dieselbe Wirkung der Vorbehandlung ist bei Suspensionen in Anzuchtlösung (p_H 4,5) zu beobachten. Vergleichsweise wurde auch hier die Momentanwirkung des Kaliums auch *während* der Belichtung herbeigeführt. Innerhalb von 2 Std ist dabei die O_2-Abgabe erreicht, welche den im Dunkeln vorbehandelten Zellen schon bei Belichtungsbeginn möglich ist. Daß die Photosyntheseleistung im

Puffer generell niedriger ist, bedarf nach den auf S. 208 gemachten Angaben keiner besonderen Betonung.

Ammonernährte Kalimangelzellen unterschieden sich in ihrem Photosyntheseverhalten erwartungsgemäß nicht von den Anzuchten in Nitratnährlösung.

b) Atmung. Wie bei *Chlorella* (l. c.), *Lemna* (PIRSON und SEIDEL) und Gerstenpflanzen (GREGORY und RICHARDS) gehört eine gesteigerte

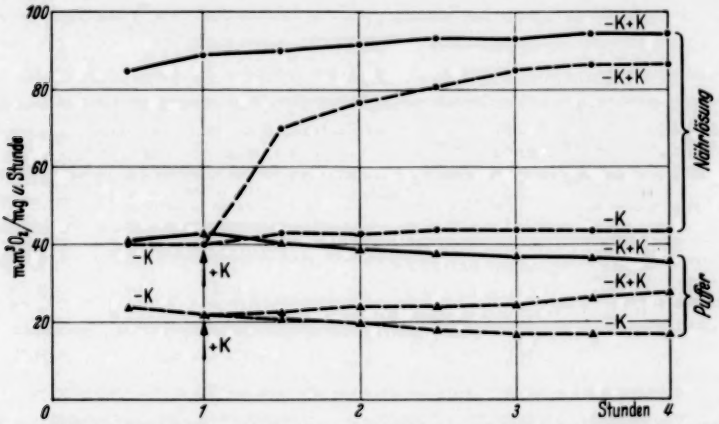


Abb. 5. Wirkung von Kalium auf Kalimangelzellen in $NaHCO_3$-Na_2CO_3-Puffer bei Vorbehandlung in Nährlösung. Zum Vergleich wurde ein Parallelversuch in Nährlösung angesetzt. Der Pfeil bezeichnet den Zeitpunkt einer nachträglichen Kalizugabe (weitere Erklärung s. Text.)

●——●——● in Nährlösung
▲——▲——▲ in Puffer
} mit KCl vorbehandelt;
●– – –●– – –● in Nährlösung
▲– – –▲– – –▲ in Puffer
} unvorbehandelt. (Vgl. auch Abb. 16.)

Tabelle 3. *Respiratorischer Sauerstoffverbrauch und CO_2-Abgabe bei Kalimangel.*
Versuchszeit 5 Std. Zahlen in Kubikmillimeter Gas je Milligramm und Stunde. ± KOH-Methode (vgl. Abb. 6a—c).

	Nitratkultur				Ammonkultur			
	$-O_2$	$+CO_2$	*RQ*	Extra-CO_2	$-O_2$	$+CO_2$	*RQ*	Extra-CO_2
Normalanzucht . . .	2,4	3,3	1,38	0,9	2,3	2,5	1,09	0,2
Kalimangel	5,5	6,2	1,13	0,7	5,9	4,8	0,81	—1,1
Kalimangel + KCl (4 Stunden)[1] . . .	3,2	4,4	1,38	1,2	4,1	4,2	1,02	0,1
Normalanzucht + Glu ose	12,5	18,7	1,50	5,2				
Kalimangel + Glukose	8,9	12,3	1,38	3,4				
Kalimangel + KCl + Glukose	2,7	4,2	1,56	1,5				

[1] Versuchszeit 4 Std, da Kaligabe erst nach 1 Std erfolgte.

Atmung zu den Kennzeichen beginnenden Kaliummangels. Der gesteigerte O_2-Verbrauch von Suspensionen geringen Mangelgrades ($^1/_{1000}$ K, 10. Kulturtag, Trockengewichtsverminderung bei Nitraternährung 10%, bei Ammonernährung 44%) geht bei Kalizufuhr rasch zurück (Abb. 6a und b). Tabelle 3 führt ergänzend die gleichzeitig gemessene CO_2-Produktion, bzw. *RQ* und Extrakohlensäurebildung innerhalb der Versuchszeit

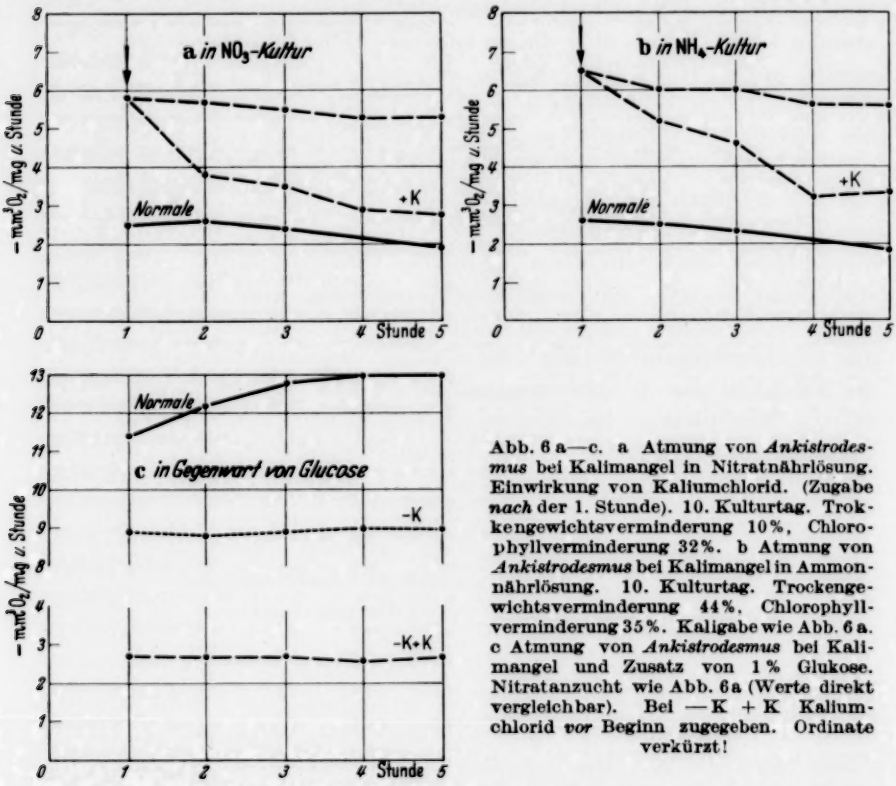


Abb. 6 a—c. a Atmung von *Ankistrodesmus* bei Kalimangel in Nitratnährlösung. Einwirkung von Kaliumchlorid. (Zugabe *nach* der 1. Stunde). 10. Kulturtag. Trockengewichtsverminderung 10%, Chlorophyllverminderung 32%. b Atmung von *Ankistrodesmus* bei Kalimangel in Ammonnährlösung. 10. Kulturtag. Trockengewichtsverminderung 44%. Chlorophyllverminderung 35%. Kaligabe wie Abb. 6a. c Atmung von *Ankistrodesmus* bei Kalimangel und Zusatz von 1% Glukose. Nitratanzucht wie Abb. 6a (Werte direkt vergleichbar). Bei —K + K Kaliumchlorid *vor* Beginn zugegeben. Ordinate verkürzt!

auf. Die *RQ*-Werte liegen bei NH_4-Kultur durchweg tiefer. Kalizusatz erhöht den *RQ* in Nitratmedium auf den Normalwert von nahezu 1,4, während der niedrige Quotient der Mangelzellen von 0,8 in der Ammonkultur auf 1 gebracht wird. Das Beispiel zeigt also deutlich den Einfluß der Nitraternährung auf die Höhe des *RQ* und die Extrakohlensäureproduktion (ob der über 1,0 liegende *RQ* von normalen Ammonkulturen auf der Oxydation eines sauerstoffreichen Substrats beruht oder der Synthese eines Zellmaterials, das O_2-ärmer ist als Kohlenhydrat, muß vorerst offen bleiben). Die Verminderung der Atmung ist in Nitratkulturen mit einer Erhöhung der Extrakohlensäureproduktion verbunden.

Bekanntlich wird die Atmung einzelliger Grünalgen durch Glukose erheblich gesteigert (Emerson). Diese „Zusatz"atmung besitzt andere Eigenschaften als die „Grund"atmung, so besonders eine viel ausgeprägtere Empfindlichkeit gegen Blausäure. Nach Myers (2) (vgl. auch Taylor) dient sie als Energiequelle für eine simultan verlaufende Glukoseassimilation von erheblichem Ausmaß. Auch im Verhalten bei Mineralsalzmangel bestehen zwischen Grundatmung und Glukosezusatzatmung Unterschiede, über die an anderer Stelle ausführlicher berichtet werden wird. Hier sei in Kürze auf das Verhalten bei Kalimangel hingewiesen. Die Messungen der Abb. 6c wurden an den Nitratkulturen der Abb. 6a durchgeführt, so daß die Werte direkt vergleichbar sind. Glukosezusatz erhöht bei Normalkulturen den Sauerstoffverbrauch auf das 5—6fache, bei Kalimangelkulturen dagegen nur knapp auf den doppelten Betrag. Bemerkenswert ist das Verhalten der Kalimangelzellen, die Kaliumsalz + Glukose erhalten hatten; ihr Sauerstoffverbrauch ist nicht wesentlich verschieden von demjenigen der glukosefreien Kalimangelzellen nach Kaliumgabe; dies gilt auch für die Extrakohlensäurebildung. Es scheint demnach, daß Kalimangel die Fähigkeit zur Glukosezusatzatmung (und damit auch zur oxydativen Assimilation der Glukose?) weitgehend und nicht kurzfristig reversibel stillgelegt hat. Die etwa aufs Doppelte erhöhte Atmung der Kalimangelzellen in Glukosegegenwart wäre demnach formal keine „Glukose"atmung, sondern lediglich eine durch Substratzufuhr noch zusätzlich gesteigerte „Grund"atmung. Es liegt nahe, solche Unterschiede zwischen den Atmungsvorgängen mit einer spezifischen Lokalisation an Strukturen von verschiedener Beeinflußbarkeit durch Ionen in Zusammenhang zu bringen. Die zugleich mit dem Versuch der Abb. 6a—c nach der ± KOH-Methode bestimmten *RQ*-Werte sind ebenfalls in Tabelle 3 angegeben. Die Steigerung des *RQ* durch Glukose ist ein Zeichen für die erhöhte Nitratassimilation bei Glukosezusatz im Dunkeln. Die Extrakohlensäurebildung wird durch den Kalizusatz zu den Mangelzellen in diesem Falle ebenso wie die Atmung fast auf den Wert der glukosefreien Parallelsuspension herabgedrückt.

c) Photosynthese im Schwachlicht. Nach früheren Befunden ist eine Anregbarkeit der Photosynthese von Kalimangelzellen durch Kalizusatz auch im Schwachlicht möglich. Die Gültigkeit dieser Feststellung mußte jedoch durch genauere Messungen geprüft werden. Auf methodischen Schwierigkeiten der Schwachlichtversuche ist bereits hingewiesen worden (S. 204); hinzu kommt, daß die starke Veränderung der Atmung durch Kalizusatz berücksichtigt werden muß. In Tabelle 4 sind Vergleichsversuche an Kalimangelzellen zweier Mangelstufen zusammengestellt. Stufe 1 zeigt nach Kalizusatz (unmittelbar vor Beginn der

Tabelle 4. *Photosynthese von Kalimangelzellen im Schwachlicht* (mm³ Gas/Trockengewicht/Std. Versuchszeit 4 Std).

	Photosynthese-überschuß		Atmung			Gesamtphotosynthese		
	$+O_2$	$-CO_2$	$-O_2$	$+CO_2$	RQ	$+O_2$	$-CO_2$	PQ
1. Schwacher Kalimangel. Trockengewichtsverminderung 3%; Starklichthemmung 60%; Reversibilität der Starklichthemmung etwa 70%.								
−K	+1,6	−2,1	−4,6	+5,1	−1,11	+6,2	−7,2	−0,86
−K+K	+2,9	−3,3	−3,1	+4,3	−1,39	+6,0	−7,6	−0,79
2. Stärkerer Kalimangel. (Trockengewichtsverminderung 31%.)								
−K	−0,5	+1,1	−4,8	+5,3	−1,09	+4,3	−4,2	−1,02
−K+K	+3,1	−1,8	−3,2	+4,6	−1,44	+6,3	−6,4	−0,98

Messungen) eine deutliche Erhöhung der apparenten Photosynthese, die aber ausschließlich auf die Atmungssenkung zurückzuführen ist; die eigentliche Photosyntheseleistung bleibt hier von der Kaliwirkung unberührt. Dies gilt für eine Suspension, die im Vergleichsversuch im Starklicht einen unverkennbaren Kalieffekt liefert. Anders liegt der Fall bei weiter fortgeschrittenem Kalimangel. Die Mangelsuspension weist hier im Schwachlicht einen geringen O_2-*Verbrauch*, also negative Stoffbilanz auf, die jedoch durch Kalizusatz in den positiven Bereich umgeschaltet wird. Dieser Effekt scheint hier nicht nur durch Atmungssenkung, sondern auch durch Photosynthesesteigerung hervorgerufen zu sein. Freilich liegt diese Beobachtung an der Grenze der Meßgenauigkeit und bedarf noch weiterer Prüfung, zumal den Berechnungen die Annahme zugrunde liegt, daß die Dunkelatmung im Schwachlicht unverändert bleibt. Es ist jedenfalls wahrscheinlich, daß einer Schwach- und Starklichtwirkung des Kaliums nicht identische Veränderungen innerhalb des Photosyntheseapparats zugrunde liegen; denn im gegenteiligen Falle sollten sich beide jeweils wenigstens qualitativ entsprechen. — Eindeutig erwiesen ist die beträchtliche Verbesserung der Stoffbilanz der Zellen bei Kalizufuhr im Schwachlicht.

V. Phosphormangel.

1. Wachstumsverlauf und Chlorophyllbildung.

Über die Wirkungen des Phosphormangels auf einzellige Algen liegen bereits einige Untersuchungen vor; diese stehen besonders im Zeichen der Tatsache, daß unter natürlichen Bedingungen das Phosphat vielfach den begrenzenden Faktor für die Planktonentwicklung bildet

[vgl. hierzu besonders GESSNER (2), RODHE, dort ausführliche Literaturangaben]. KETCHUM und später SCOTT haben die starke Phosphataufnahme analytisch belegt, welche bei Zufuhr von Phosphat zu Phosphormangelzellen eintritt. Abb. 7 gibt die Messungen wieder, die wir an Phosphormangelkulturen (Nitraternährung) zweier Mangelgrade vor-

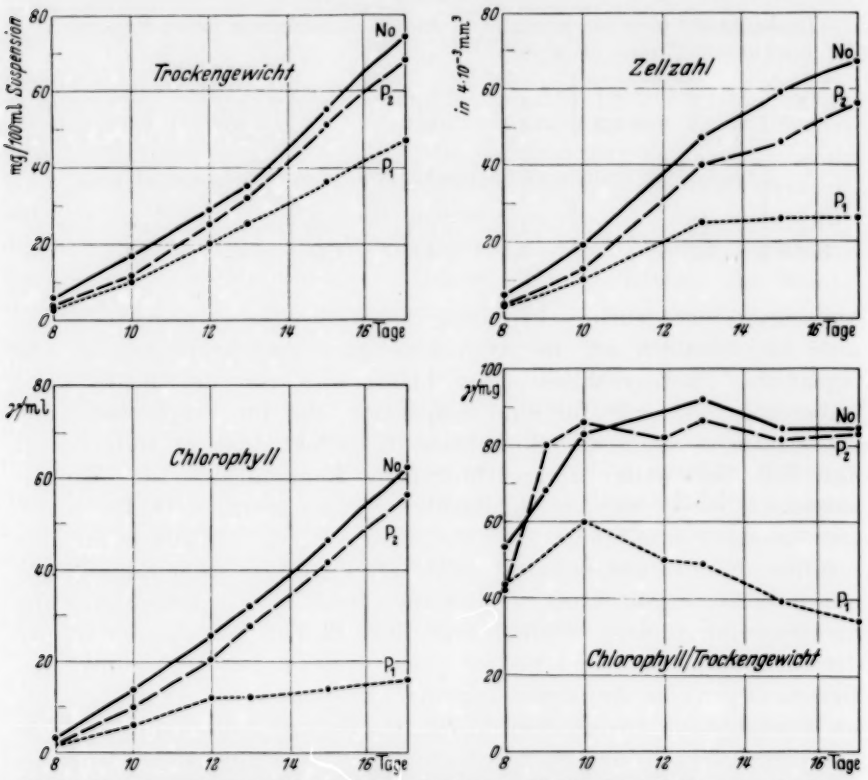


Abb. 7. Trockengewichtsproduktion, Zellvermehrung und Chlorophyllbildung von *Ankistrodesmus* bei Phosphormangel. No = Normalkultur. (Vgl. hierzu Abb. 3, 10, 12 und 14.)

genommen haben. P_1 erhielt etwa $^1/_{200}$, P_2 $^1/_{40}$ der Normalmenge an Phosphat. Das fehlende Phosphat wurde durch KCl osmotisch ergänzt und im Kulturverlauf der p_H-Wert durch einen Zusatz von K_2CO_3-Lösung mehrfach auf den Anfangswert von 5,2—5,7 eingestellt. Die Lösung ist somit verhältnismäßig reich an Kalium; Kaliumüberschuß in mäßigen Grenzen hat nach unseren Erfahrungen keinen Einfluß auf die Entwicklung der Kulturen. — Die Stufe P_2 läßt nur geringe Mangeleffekte erkennen. Das Trockengewicht ist wenig vermindert, während die Zellzahl bereits eine stärkere Depression zu zeigen beginnt. Die Chlorophyllbildung ist zunächst leicht gefördert, eine Erscheinung, die wir

bei *Chlorella* noch deutlicher beobachtet haben; dies paßt zu Angaben, wonach auch bei höheren Pflanzen der Chlorophyllgehalt bei P-Mangel nachweisbar erhöht ist (vgl. BUKATSCH). In der Stufe stärkeren Phosphormangels ist die Trockensubstanzproduktion und in bedeutend stärkerem Maße auch die Zellvermehrung gehemmt; es resultiert dabei eine deutliche Vergrößerung der Einzelzellen (s. Tabelle 1). Der Chlorophyllgehalt der Suspension steigt vom 12. Tage an kaum mehr weiter, d. h. es tritt in diesem Mangelbereich eine deutlich fortschreitende Chlorose ein, ein bemerkenswerter Unterschied gegenüber Kalimangel (Abb. 3), wo die Chlorose infolge der Koinzidenz der gebremsten Chlorophyll- und Substanzvermehrung bald einen konstanten Wert erreicht. Der Chloroplast zerteilt sich bei zunehmendem P-Mangel und zerfällt schließlich ganz. Fettproduktion, die bei Hefepilzen (K. L. SCHULZE) und *Hydrodictyon* (NEEB) im Phosphormangelzustand einsetzt, tritt in *Ankistrodesmus* nicht auf; dies scheint auch für *Chlorella* zu gelten (SPOEHR und MILNER).

Eine auffallende Erscheinung ist die verminderte Extrahierbarkeit des Chlorophylls von Phosphormangelzellen, die eine längere Einwirkung des Methylalkohols und mehrfache Erneuerung desselben erforderlich macht. Die Bindungs- oder Verteilungsform des Chlorophylls scheint demnach etwas verändert zu sein. Ähnliches beobachteten wir übrigens auch bei sehr starkem Magnesium- und Kalimangel.

2. *Stoffwechsel.*

a) Photosynthese im Starklicht. Die beiden Mangelstufen P_1 und P_2 wurden in Suspensionen von annähernd gleicher Dichte am 13. und 16. Kulturtag auf ihre Photosyntheseleistung im Starklicht geprüft. Die zuvor erforderliche Einstellung des p_H-Werts auf 4,2—4,5 erfolgte in diesem Fall mit verdünnter Salzsäure. Die Diagramme der Abb. 8 fassen das Ergebnis dieser Versuche zusammen und zeigen zum Vergleich die zugehörigen Werte für Trockensubstanz- und Chlorophyllproduktion. Da für die Berechnung der $PQ = 1$ gesetzt wurde, wird bei den noch stärker wachsenden Normalkontrollen und den Suspensionen geringen P-Mangels ein anfänglicher Photosyntheseanstieg vorgetäuscht, der in Wirklichkeit auf einer Erhöhung des PQ infolge einsetzender Nitratassimilation beruhen dürfte (vgl. Abb. 2). Die Stufe geringen Phosphormangels, bei der am 13. Tage noch kaum eine Verminderung von Wachstum und Chlorophyllbildung stattgefunden hat, entspricht auch in der Photosyntheseleistung durchaus der gleichaltrigen Normalkultur. Am 16. Tage jedoch ist die Photosynthese bereits um etwa 30% gehemmt, obwohl Trockengewicht und Chlorophyll erst um wenige Prozent abgenommen haben. In der Mangelstufe P_1 ist am 13. Tage bei einer Substanzproduktion von 71% und

einer Chlorophyllbildung von 54% nurmehr eine etwa 30%ige Photosyntheseleistung möglich; am 16. Tage sind die entsprechenden Werte 64, 42 und 10—15% der Normalanzucht. Wie im Falle des Kalimangels

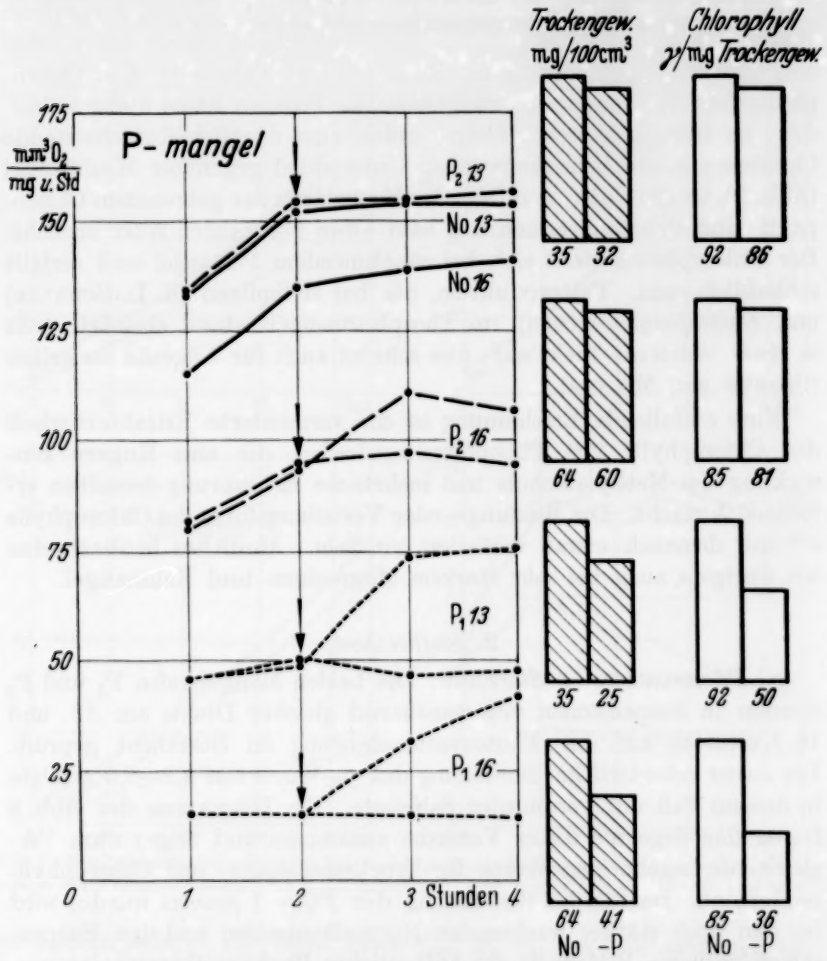


Abb. 8. Photosynthese von Phosphormangelkulturen verschiedenen Alters und Mangelgrades. P_2 13 und P_2 16 = schwacher P-Mangel am 13. und 16. Kulturtag. P_1 13 und P_1 16 = stärkerer P-Mangel am 13. und 16. Kulturtag. No 13 und No 16 = Normalanzuchten am 13. und 16. Kulturtag. Die Pfeile bezeichnen den Zeitpunkt der Zugabe von KH_2PO_4 zu je einem Teil der Mangelsuspensionen. Rechts die zu jeder Mangelstufe gehörigen Wachstumsdaten im Vergleich mit gleichaltrigen Normalkulturen. Die Berechnung der O_2-Werte erfolgte unter Annahme eines $PQ = 1$. (Vgl. auch Abb. 4, 11, 13 und 15.)

sinkt also die Photosynthese im Starklicht stärker ab als die Substanzproduktion und der Chlorophyllgehalt. Jedoch erfolgt dieser Abfall nicht so plötzlich und führt bei verschiedenem Mangelgrad auf durch-

aus verschiedene Leistungsstufen des Photosyntheseapparats. Infolgedessen lassen sich die Phosphormangelstufen sämtlich innerhalb eines Koordinatensystems anordnen, was im Falle des Kalimangels (Abb. 4) wegen der wenig verschiedenen Anfangswerte der Starklichtphotosynthese aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht möglich war. Dieser Unterschied zwischen einem „Absturz" der Photosynthese bei Kalimangel und einem „Absinken" bei Phosphormangel scheint uns ein bemerkenswertes Kennzeichen für die genauere physiologische Charakterisierung beider Mangelzustände zu sein.

Die Wiederzufuhr von Phosphat (KH_2PO_4) ruft bei schwachem P-Mangel innerhalb 1 Std einen chlorophyllunabhängigen Photosyntheseanstieg hervor. Dieser ist entsprechend der geringen vorangehenden Hemmung (etwa 30%) nicht beträchtlich, dürfte aber eine annähernde Normalisierung der Leistung herbeiführen, da zumindest der Anfangswert der vergleichbaren Normalkultur etwa erreicht wird. Absolut und relativ größer ist die Phosphatwirkung bei den Suspensionen des stärkeren Mangelgrades. In der 13 Tage alten Kultur erfolgt im Verlauf 1 Std ein ruckartiger Anstieg um 58%; nach Fortdauer des Mangels um 3 weitere Tage ist die Photosynthesesteigerung nach Phosphatzusatz etwas verflacht, aber relativ sehr ausgeprägt (110% in der 1., 186% in der 2. Std nach Phosphatgabe). Im Unterschied zum Kalimangel ist also noch bei einer Photosynthesehemmung auf etwa $^1/_8$ des Normalwerts Reversibilität der Hemmung im Starklicht vorhanden; es handelt sich freilich nur um eine partielle Wiederherstellung, denn die Normalphotosynthese wird hier bei weitem nicht mehr erreicht. Parallel zu dem Versuch der Abb. 8 haben wir das Verhalten von Trockengewicht und Chlorophyllgehalt nach Phosphatgabe zur Mangelstufe $P_1 13$ verfolgt. Nach 1 Std waren Trockengewicht und Chlorophyllgehalt gegenüber den Normalen noch nicht meßbar erhöht, nach 5 Std um 10 bzw. 3%, wobei die Trockengewichtszunahme natürlich in erster Linie nur der Assimilatproduktion zuzuschreiben ist. Die Zellzahl war nach 5 Std noch unverändert geblieben, der p_H-Wert von 4,4 auf 4,8 erhöht. Diese Daten sprechen eindeutig dafür, daß ein echter Photosyntheseanstieg vorliegt. — Da die Versuche der Abb. 8 nur mit der direkten Methode durchgeführt sind, muß schließlich die Möglichkeit ausgeschlossen werden, daß der Druckanstieg nach Phosphatgabe durch eine plötzliche Änderung des *PQ* herbeigeführt ist. Zu diesem Zwecke wurde eine Mangelsuspension, die der Stufe „$P_1 13$" der Abb. 8 entspricht, gesondert nach der indirekten Methode vermessen. Aus Abb. 9 ist klar ersichtlich, daß O_2-Abgabe *und* CO_2-Verbrauch innerhalb 1 Std sprunghaft auf einen nahezu konstanten, um etwa 50% höheren Wert ansteigen. Eine *geringe* Erhöhung des Defizits im CO_2-Verbrauch deutet an, daß im Zuge der Photosynthese-

steigerung auch die Möglichkeit einer etwas erhöhten Extrakohlensäurebildung (Nitratassimilation) geschaffen wurde (vgl. ein entsprechendes Verhalten von Kalimangelzellen, Abb. 4).

b) Atmung. Die Atmung von Phosphormangelsuspensionen der Stufe P_1 wurde am 13. Kulturtage im Vergleich mit Normalanzuchten gemessen. Wir stellten hierzu dichte Suspensionen her und wählten zur Erzielung ausreichender Ablesegenauigkeit Meßzeiten von je 2 Std. O_2-Verbrauch und CO_2-Abgabe wurden nach der ± KOH-Methode bestimmt. Bei normalem respiratorischen Quotienten ist die Atmung

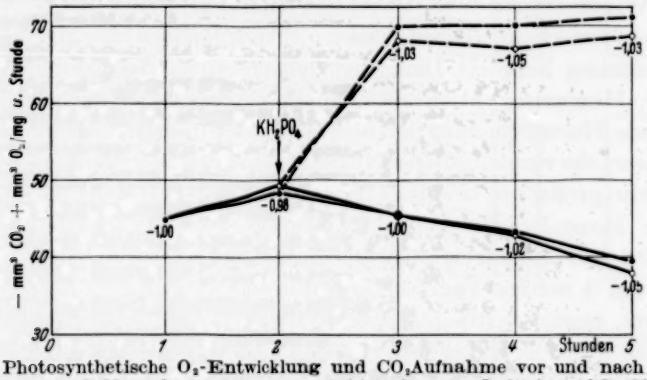


Abb. 9. Photosynthetische O_2-Entwicklung und CO_2Aufnahme vor und nach Phosphatgabe in einer P-Mangelsuspension von *Ankistrodesmus*. Indirekte (GD-)Methode.

der Phosphormangelzellen etwas gesteigert (Tabelle 5). Diese Steigerung erscheint uns nicht völlig gesichert zu sein, obwohl wir sie in mehreren Versuchen bestätigt fanden; denn die Atmung normaler Zellen ist keine genau reproduzierbare Bezugsgröße und z. B. von der gewählten Suspensionsdichte im Versuch nicht völlig unbeeinflußt. Zugabe von primärem Kaliumphosphat in Normaldosierung hebt die geringe Steigerung nicht auf, sondern erhöht die Atmung weiter auf mehr als das Doppelte des Normalwertes. — Aus Tabelle 6 ist ferner der Einfluß von Phosphatmangel und Phosphatzufuhr auf die Glukosezusatzatmung einer vergleichbaren Mangelsuspension ersichtlich. Während Glukosezusatz (1%) den O_2-Verbrauch der Normalzellen von *Ankistrodesmus* etwa auf das

Tabelle 5. *Atmung von Phosphormangelzellen.*

Mangelstufe P/200. Kulturalter 13 Tage; Trockengewichtsverminderung 45%; Suspensionsdichte im Versuch 4,9 mg/8 cm³ (P/200), 4,8 mg/8 cm³ (Normalkontrolle). Werte in mm³ Gas je Milligramm und Stunde. ± KOH-Methode.

Versuchszeit	P/200			P/200 + KH_2PO_4			Normal		
	$-O_2$	$+CO_2$	*RQ*	$-O_2$	$+CO_2$	*RQ*	$-O_2$	$+CO_2$	*RQ*
1.—2. Std	2,3	2,8	—1,22	3,5	4,3	—1,23	1,5	1,8	—1,20
3.—4. Std	2,3	2,8	—1,22	3,5	4,3	—1,23	1,6	2,0	—1,25

Tabelle 6. *Respiratorischer O_2-Verbrauch von Phosphormangelzellen (P/200) mit und ohne Glukose.*
KOH im Einsatzstutzen der Manometergefäße. Werte in mm³ O_2/mg/Std.

Versuchszeit	P/200	P/200 + KH_2PO_4	P/200 + 1 % Glukose	P/200 + 1 % Glukose + KH_2PO_4
1.—2. Std	—2,2	—4,5	—3,8	— 9,3
3.—4. Std	—2,2	—4,6	—4,1	—10,2

5—6fache erhöht (s. Tabelle 3), ist derselbe bei den Phosphormangelsuspensionen nur knapp verdoppelt. Phosphat *und* Glukose führen aber auch hier sogleich zu einer Vervielfachung des O_2-Verbrauchs; der Phosphateinfluß auf die Grundatmung ohne Glukose entspricht dem in Tabelle 5 dargestellten Verhalten.

c) Schwachlicht. Die Atmungsveränderungen bei Phosphatzufuhr beeinflussen das Photosyntheseverhalten der P-Mangelzellen im Starklicht wohl nur geringfügig, da die Dunkelatmung nur einige Prozent des photosynthetischen Gasumsatzes ausmacht. Im Schwachlicht dagegen wird die Stoffbilanz der Zellen stark vom Verhalten der Atmung mitbestimmt. Wir haben auch hier versucht, aus der apparenten Photosynthese bei Phosphatzufuhr im Schwachlicht und der Atmung einen Anhaltspunkt für die Beurteilung der Phosphatwirkung auf die Gesamtphotosynthese zu gewinnen. Deutlich zeigt Tabelle 7, daß der Phosphatzusatz die apparente Photosynthese stark erniedrigt, also den *entgegengesetzten* Effekt hervorruft als wie die Kalizufuhr zu Kaliummangelzellen. Eine Photosynthesesteigerung ist nicht nachweisbar, wobei allerdings erneut auf die methodischen Komplikationen bei Schwachlichtmessungen verwiesen werden muß. Auf Grund dieser Messungen und mehrfacher Versuche ähnlicher Art halten wir es für wahrscheinlich, daß die Phosphatwirkung im Schwachlicht ausschließlich in der Erhöhung der Atmung besteht, die photosynthesesteigernde Wirkung des Phosphats sich also auf Starklichtbedingungen beschränkt. Eine genauere Untersuchung dieser Verhältnisse ist in Angriff genommen.

Tabelle 7. *Photosynthese von Phosphormangelsuspensionen im Schwachlicht.*
(60 Lux in Höhe der Böden der Manometergefäße.)
Mangelstufe P/200, 13 Tage alt; Trockengewichtsverminderung 43 %; Chlorophyllverminderung 52 %; Phosphatgabe nach der 2. Std. Gleiche Suspensionsdichte im Licht- und Dunkelversuch. GD-Methode. Zahlen in mm³ verbrauchter O_2/mg u. Std.

Meßzeiten	Photosynthese-überschuß		Atmung		Gesamtphotosynthese	
	P/200	P/200 + P	P/200	P/200 + P	P/200	P/200 + P
1.—2. Std . . .	4,7	4,9	2,1	2,1	6,8	7,0
3.—4. Std . . .	4,7	0,8	1,9	6,3	6,6	7,1

VI. Magnesiummangel.

1. Wachstumsverlauf und Chlorophyllbildung.

Über das Wachstum von *Chlorella*-Kulturen bei Mg-Mangel berichten im Zusammenhang mit Stoffwechselmessungen FLEISCHER und VAN HILLE (vgl. auch KENNEDY). RODHE hat bei seinen Untersuchungen

über die Ernährungsphysiologie von Planktonten auch eine kurze Mitteilung über die Wachstumshemmung von *Scenedesmus* bei Mg-Mangel einbezogen.

Unsere Messungen unterscheiden sich von denen der genannten Autoren insbesondere durch die Berücksichtigung der Trockensubstanz-

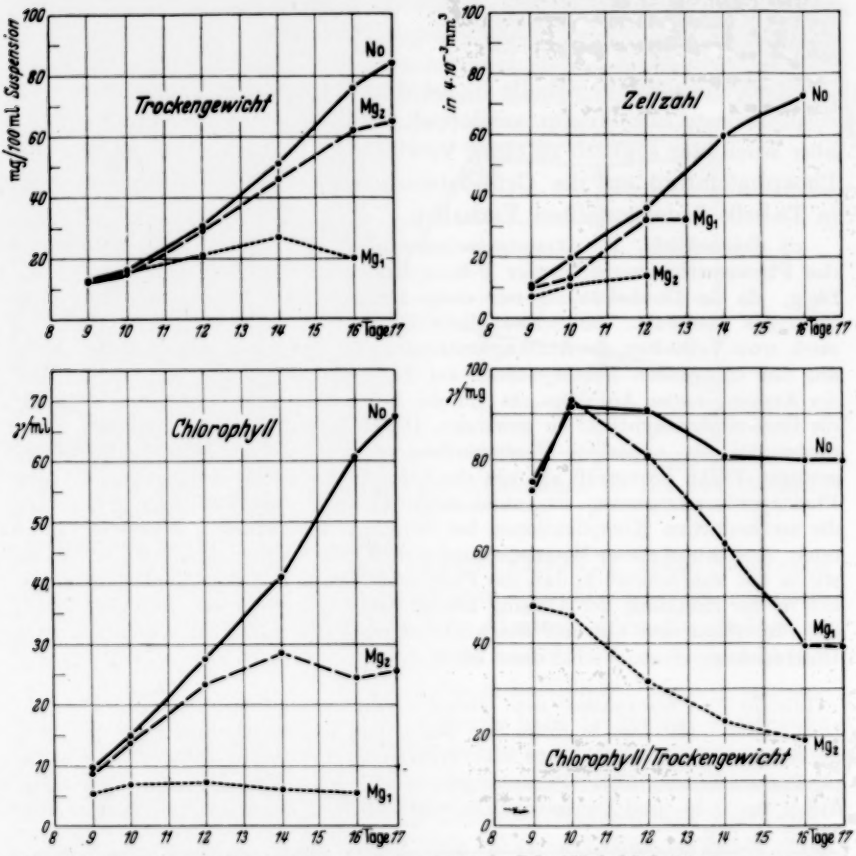


Abb. 10. Trockengewichtsproduktion, Zellvermehrung und Chlorophyllbildung von *Ankistrodesmus* bei Magnesiummangel. No = Normalkultur. (Vgl. auch Abb. 3, 7, 12 und 14.)

produktion und im Zusammenhang damit durch die genaue Festlegung des Chloroseeintritts. Im Unterschied zu Fleischer und van Hille kultivierten wir ohne Zusatz von Glukose zum Nährmedium.

Die Anzucht erfolgte im Vergleich mit Normalkulturen in zwei Mg-Mangelstufen: Mg_1 enthielt als Ausgangsmenge $4{,}9 \cdot 10^{-4}$ g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ pro 250 cm³, das ist $^1/_{130}$ der Normalmenge. Mg_2 enthielt $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$/250 cm³ ($= {}^1/_{25}$). Das fehlende $MgSO_4$ wurde durch Na_2SO_4 in äquimolarer Konzentration ersetzt. In völlig Mg-frei an-

gesetzten Kulturen fand nahezu kein Wachstum statt. Die Zellzählungen waren erschwert durch die auch von RODHE erwähnte Tendenz der Mg-Mangelzellen, zu sedimentieren und zu aggregieren. Diese Störung war auch bei der Schüttelanzucht nicht ganz zu vermeiden; die Zählungen wurden nach 12—13 Tagen ungenau und daher abgebrochen.

Aus Abb. 10 ergibt sich als das markanteste Merkmal des Magnesiummangels die steil abfallende Kurve für den trockengewichtbezogenen Chlorophyllgehalt. In der Stufe schwächeren Mangels findet zunächst noch die für die Schwachlichtadaption der Normalzellen charakteristische Chlorophyllvermehrung statt; im Anschluß daran setzt die Chlorose schlagartig ein, da das Magnesium plötzlich den unmittelbar begrenzenden Faktor der Chlorophyllbildung darstellt. In keinem anderen Mangelfall ist der Chloroseeintritt so evident. — Morphologische Mangelkennzeichen konnten hier verhältnismäßig frühzeitig festgestellt werden. Vom 11. Kulturtage an waren die Chloroplasten in der stärkeren Mangelstufe (Mg_1) aus der Zellspitze herausgezogen und abgerundet und zeigten zum Teil „schaumige" Degeneration ohne erkennbare Fettbildung. Im späteren Wachstumsverlauf dieser Stufe traten auch bereits einige tote Zellen auf. Dies spricht für eine rasch einsetzende und tiefgreifende Mangelwirkung.

Die Teilungsfähigkeit ist bei Mg-Mangel stark gehemmt. Dies äußert sich in einer beträchtlichen Vergrößerung der Einzelzelle im Verlauf der Mangelanzucht (vgl. Tabelle 1).

2. Stoffwechsel.

Wir untersuchten zunächst im kurzfristigen Versuch gleichzeitig die Photosynthese von 3 abgestuften Mg-Mangelsuspensionen, die auf annähernd gleiche Dichte gebracht waren. Bei der Berechnung der Werte für die erste Belichtungsstunde kann dabei nach unseren Erfahrungen die direkte manometrische Methode (unter Annahme $\gamma = -1$) angewendet werden. Neben den für die Wachstumskulturen charakteristischen Daten für die O_2-Produktion haben wir auch den Quotienten Photosynthese/Chlorophyll aufgeführt (Tabelle 8).

Tabelle 8. *Photosynthese im Starklicht bei Magnesiummangel verschiedenen Grades.* Kulturdauer 15 Tage; Meßzeit 1 Std; Direkte Methode ($\gamma = -1$ gesetzt); Zahlen in Klammern: Photosyntheseüberschuß + Dunkelatmung.

Mangelstufe	Trockengewicht in mg/100 cm³ Anzuchtsuspension	Chlorophyll in γ/mg Trockengewicht	Dichte der Versuchssuspension mg Trockengewicht/8cm³	Photosynthese in mm³ O_2 je mg Trockengewicht und Stunde	Photosynthese pro Chlorophyll (mm³ O_2/γ)
Normalkultur . .	69	72	4,1	130 (134)	1,81 (1,86)
Mg/25	56	61	3,9	83 (87)	1,36 (1,43)
Mg/50	55	26	4,3	25 (30)	0,97 (1,16)
Mg/130	25	19	3,8	7 (12)	0,37 (0,63)

Die Photosynthese fällt hiernach im Starklicht mit zunehmendem Mg-Mangel kontinuierlich ab. Die Hemmung ist viel größer als die Verminderung der Substanzproduktion im schwachen Licht der Anzuchtanlage. Die Photosynthesehemmung ist ferner weit stärker als die Verminderung des Chlorophyllgehalts; der Quotient Photosynthese/Chloro-

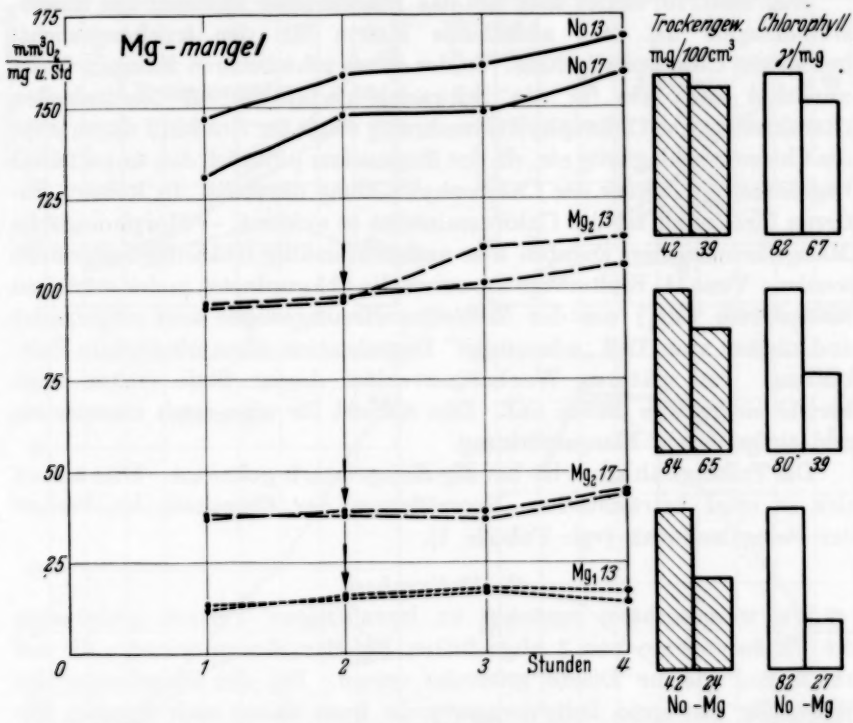


Abb. 11. Photosynthese von Magnesiummangelkulturen verschiedenen Alters und Mangelgrades. Mg_2 13 und Mg_2 17 schwacher Mg-Mangel am 13. und 17. Kulturtag. Mg_1 13 starker Mg-Mangel am 13. Kulturtag. No 13, No 17 Normalkultur am 13. und 17. Versuchstag. Die Pfeile geben den Zeitpunkt der Zugabe von $MgSO_4$ (Normaldosis) zu einem Teil der Mangelsuspensionen an. (Vgl. Abb. 4, 8, 13 und 15.)

phyll nimmt daher stark ab. Dieser Befund entspricht den Angaben von Fleischer über eine chlorophyllunabhängige Photosynthesehemmung von *Chlorella* aus glukosehaltigen Mg-Mangelkulturen (vgl. später Kennedy und Bukatsch für höhere Pflanzen).

Dagegen ließen sich die Daten van Hilles, die bei Magnesiummangel trotz angeblicher Wachstumshemmung weder eine deutliche Chlorose noch eine direkte, d. h. chlorophyllunabhängige Hemmung der Photosynthese erkennen lassen, nicht reproduzieren. Worauf diese Unstimmigkeit beruht, läßt sich besonders deshalb schwer entscheiden, weil van Hilles Bestimmung der Algenvermehrung durch Messung des Volumens der zentrifugierten Zellen nach erfolgter Chlorophyllextraktion mit großen Fehlerquellen verbunden ist.

Ein anderer Photosyntheseversuch (Abb. 11), der mit einer Mg-Mangelanzucht am 13. und 17. Kulturtag durchgeführt wurde, diente in erster Linie der Prüfung der Reversibilität der Photosynthesehemmung. Die beiden verwendeten Mangelstufen hatten die gleiche Ausgangskonzentration an Mg wie die zur Wachstumsmessung verwendeten Anzuchten (Abb. 10). Die Mangelstufe Mg_1 konnte nur am 13. Tage vermessen werden, da sie 4 Tage später bereits zu stark gestört war und bereits tote Zellen enthielt. Die Hemmwirkung des Mg-Mangels entsprach durchaus dem Versuch der Tabelle 8. Die Zufuhr von Mg wirkte nur bei Beginn des Mangelzustandes und auch da nur sehr schwach fördernd. In mehreren anderen Versuchen mit Suspensionen schwachen Mg-Mangels gelang es uns überhaupt nicht, eine kurzfristige Reaktion auf die Mg-Zugabe festzustellen. Hierin liegt ein bemerkenswerter Unterschied des Magnesiummangels gegenüber anderen Mineralsalzmangelzuständen (z. B. K-, P-, Mn- und N-Mangel). Das Mg-Ion vermag das erniedrigte Verhältnis Photosynthese: Chlorophyll nicht wesentlich zu verändern. Aus einem langfristigen Versuch, der in Tabelle 9 dargestellt ist, ergab sich, daß die Photosynthese der Mangelzellen erst sehr allmählich verstärkt wird, wobei jedoch neben einer geringen, allein durch Assimilatanhäufung erklärbaren Substanzvermehrung keine Chlorophyllneubildung stattfindet. — Bei Zugabe von $MgSO_4$ zu den Mangelkulturen in der Anzuchtanlage war eine Vermehrung des Chlorophyllgehalts deutlich nachweisbar, und zwar bis auf den doppelten Wert innerhalb von 30 Std. Die Zellvermehrung kam selbst hier erst nach 3 Tagen wieder merklich in Gang.

Tabelle 9. *Langfristige Wirkung von Mg-Ionen auf die Photosynthese von Mg-Mangelzellen (Starklicht).*

Kulturdauer 14 Tage. Anfangsgehalt Mg/50. Mg-Zugabe unmittelbar vor Versuchsbeginn (Normaldosis). Gesamtdauer des Versuches 24 Std 40 min. Zwischen den Photosynthesemessungen war verdunkelt. Trockengewicht der Versuchssuspension 6,9 mg/8 cm³; Chlorophyllgehalt der Versuchssuspension 210 γ/8 cm³. Apparente Photosynthese in mm³ O_2/Std und Milligramm Trockengewicht.

Versuchszeit	Mg-Mangel + $MgSO_4$	Mg-Mangel	Zunahme bei Mg-Gabe %
9^{40}—11^{40}	26,3	26,2	(0,4)
17^{50}—19^{50}	29,6	25,3	17
8^{20}—10^{20}	31,4	24,0	31
Trockengewicht nach Versuch (mg/8 cm³)	7,9	7,05	12
Chlorophyllgehalt nach Versuch γ/8 cm³ .	191	193	(—1)

Der Photosynthesequotient ist bei mäßigem Magnesiummangel nicht verändert. Wir führen einen diesbezüglichen Versuch (Tabelle 10) besonders deshalb

Tabelle 10. *Photosynthesequotient bei Mg-Mangel.*

Kulturalter 12 Tage. Anfangskonzentration Mg/50; Photosynthesehemmung etwa 50%. GD-Methode. Mg-Zugabe nach der 2. Std (s. Pfeil). Gasumsatz in mm³ O_2/Std/mg.

Versuchsstunden	Mg-Mangel + $MgSO_4$			Mg-Mangel		
	$+O_2$	$-CO_2$	PQ	$+O_2$	$-CO_2$	PQ
1	96	97	0,99	97	100	0,97
2 ↓	92	92	1,00	103	105	0,98
3	89	88	1,01	90	87	1,03
4	82	81	1,01	84	80	1,05
5	72	69	1,04	75	72	1,04

an, weil er zugleich ein gutes Beispiel für die Zunahme des PQ mit andauernder Belichtung zeigt, wie sie auch bei Normalzellen beobachtet werden kann. Der langsame Abfall der Photosynthese der Mg-Mangelzellen im Starklicht ist nicht mit einem photooxydativen O_2-Verbrauch verbunden. Eine spezifische Hemmung der Nitratassimilation durch Mg-Mangel kommt nicht in Betracht.

Orientierende Stoffwechselversuche über die Einwirkung des *Berylliums* auf *Ankistrodesmus* an Normal- und Mg-Mangelanzuchten ließen eine Ersetzbarkeit des Mg durch Be nicht erkennen. Berylliumsulfat wirkt in einer Konzentration oberhalb von 10^{-2} mol auf die Photosynthese von Normal- und Mangelzellen stark hemmend ein. Die Hemmung ist zum Teil reversibel; sie liegt jedoch in einem Konzentrationsbereich, der sich um mehrere Zehnerpotenzen von der spezifischen Hemmwirkung des Be unterscheidet, welche Klemperer und Mitarbeiter, sowie Grier und Mitarbeiter für die Aktivität von alkalischen Phosphatasen in vitro angeben.

b) Atmung. Die Atmung der Mg-Mangelkulturen ist deutlich gesteigert, bei einer 13 Tage alten Kultur der Mangelstufe Mg/50 etwa auf das Doppelte (Tabelle 11). Dabei ist der respiratorische Quotient etwas erniedrigt. Mg-Zusatz hat offensichtlich auch auf die Atmung *keinen* sofortigen Einfluß. (Der niedrige Einzelwert der CO_2-Abgabe in den ersten beiden Versuchsstunden dürfte keine reelle Bedeutung haben.)

Tabelle 11. *Atmung bei Magnesiummangel.*

Mangelstufe Mg/50, Kulturalter 13 Tage. Trockengewicht 37 mg/100 cm³ (Hemmung 16%); Chlorophyll 28 γ/mg (Hemmung 42%). Versuchssuspensionen annähernd auf gleiche Dichte gebracht. ± KOH-Methode. Mg-Zusatz vor Versuchsbeginn. Gasumsatz in mm³ O_2/Std und Milligramm Trockengewicht.

Versuchsstunden	Mg-Mangel + $MgSO_4$			Mg-Mangel (Kontrolle)			Normalsuspension gleichen Alters		
	$+CO_2$	$-O_2$	RQ	$+CO_2$	$-O_2$	RQ	$+CO_2$	$-O_2$	RQ
1—2	2,8	3,6	(0,78)	4,2	3,9	1,08	2,7	2,2	1,23
3—4	4,0	3,7	1,08	4,1	3,6	1,14	2,3	1,8	1,28
5—6	4,2	3,5	1,20	3,6	3,2	1,11	2,3	1,6	1,44
7—8	4,4	3,7	1,19	4,0	3,3	1,21	2,1	1,6	1,31
1—8	3,9	3,6	1,08	4,0	3,5	1,14	2,5	1,8	1,39

VII. Eisenmangel.

1. Wachstumsverlauf und Chlorophyllbildung.

Abgestufter Eisenmangel wurde erhalten in folgenden Nährlösungen: Fe_1: $4 \cdot 10^{-5}$ g $FeSO_4 \cdot 5\ H_2O$ in 250 $cm^3 = {}^1/_{60}$ der Normalkonzentration und Fe_2: $6 \cdot 10^{-4}$ g $FeSO_4 \cdot 5\ H_2O$ in 250 $cm^3 = {}^1/_4$ der Normalmenge. Die in Abb. 12 dargestellten Wachstumsdaten lassen erkennen, daß

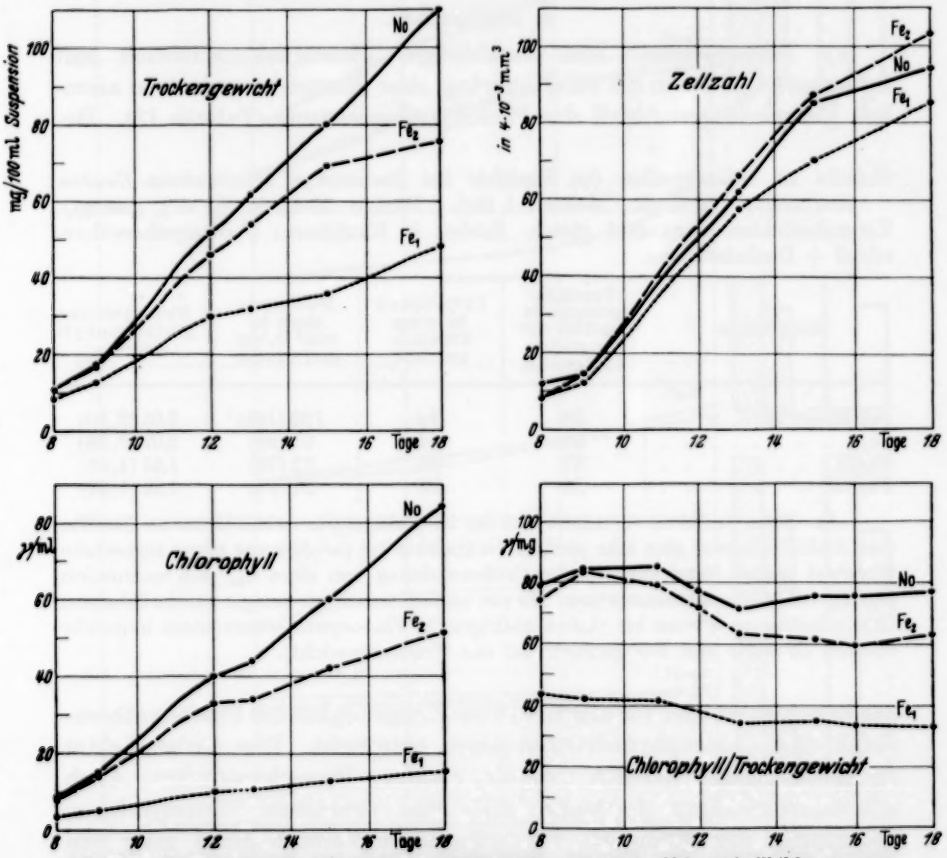


Abb. 12. Trockengewichtsproduktion, Zellvermehrung und Chlorophyllbildung von *Ankistrodesmus* bei Eisenmangel. (No = Normalkultur.) (Vgl. hierzu Abb. 3, 7, 10 und 14.)

der Eintritt in das Mangelstadium verhältnismäßig kontinuierlich erfolgt und auch im Mangelbereich noch eine langsame Weiterentwicklung stattfindet. Der Chlorophyllgehalt sinkt durchaus nicht so abrupt wie im Falle des Mg-Mangels oder bei stärkerem P-Mangel. Selbst in der Stufe starken Fe-Mangels nimmt die absolute Chlorophyllmenge noch langsam zu. Dementsprechend erreicht das Verhältnis Chlorophyll: Trockengewicht nicht die Extremwerte, die man von der „klassischen"

Eisenchlorose hätte erwarten können. Verhältnismäßig wenig wird die Zellvermehrung vom Fe-Mangel betroffen. Daher kommt es zu einer Verkleinerung der Zellen (Tabelle 1). Die mikroskopische Untersuchung zeigt in dem hier untersuchten Mangelbereich sonst außer dem Chlorophylldefizit keine tiefgreifenden Abbauerscheinungen. Tote Zellen traten nicht auf.

2. *Stoffwechsel.*

a) Photosynthese. Ein kurzfristiger Photosyntheseversuch mit 3 Eisenmangelstufen am 14. Kulturtag einer Anzucht ergab einen ziemlich gleichmäßigen Abfall der Photosyntheseleistung (Tabelle 12). Be-

Tabelle 12. *Photosynthese im Starklicht bei Eisenmangel verschiedenen Grades.* Kulturalter 14 Tage. Meßzeit 1 Std. Direkte Methode ($\gamma = 1$ gesetzt). Versuchsdichten annähernd gleich. Zahlen in Klammern: Photosyntheseüberschuß + Dunkelatmung.

Mangelstufe	Trockengewicht in mg/100 cm³ Anzuchtsuspension	Chlorophyll in γ/mg Trockengewicht	Photosynthese in mm³ O_2/mg und Stunde	Photosynthese pro Chlorophyll mm³ O_2/γ
Normalkultur	54	74	152 (155)[1]	2,05 (2,10)
Fe/8	48	44	91 (95)	2,07 (2,16)
Fe/50	27	39	72 (76)	1,85 (1,95)
Fe/100	20	28	51 (54)	1,82 (1,93)

[1] An dieser Stelle sei vermerkt, daß der in vorliegender Arbeit benutzte Stamm von *Ankistrodesmus* eine sehr geringe Grundatmung (= Atmung ohne zugesetzte Glukose) besitzt, und zwar in der Größenordnung von etwa $^1/_{50}$ des maximalen photosynthetischen Gasumsatzes. Die von uns untersuchten weniger raschwüchsigen Chlorellastämme atmen bei etwas niedrigerem Photosynthesemaximum ungefähr doppelt so stark (bei Bezugnahme auf das Trockengewicht).

merkenswert ist hier vor allem, daß im Mangelbeginn der Photosyntheseabfall dem Chlorophyllschwund genau entspricht. Dies unterscheidet den Eisenmangel deutlich von den anderen Mangelzuständen. Auch mit zunehmendem Fe-Defizit sinkt das Verhältnis Photosynthese: Chlorophyll nur gering ab, im vorliegenden Versuch nicht unter den Wert 1,8, den man in älteren *Normal*kulturen häufig findet. Auch mit dem Trockengewichtsabfall deckt sich die Photosynthesehemmung ziemlich genau, d. h. die Hemmung ist durch das intensive Versuchslicht (Sättigungsintensität der Photosynthese) nicht wesentlich verstärkt.

Ein ähnliches Bild ergibt die Versuchsreihe der Abb. 13, in der wie in den anderen Mangelversuchen die Ergebnisse kurzfristiger Messungen an 2 Versuchstagen bei 2 Mangelstufen zusammengestellt sind. Wir haben aus unserem Versuchsmaterial diese Serie ausgewählt, weil sie die Extremwerte der Photosyntheseleistung bei Normalkulturen

enthält, die wir im Laufe unserer zahlreichen Anzuchten unter konstanten Bedingungen gefunden haben (etwa 230 cm^3 O_2 pro Stunde und mg Trockengewicht bei einem Chlorophyllgehalt von 8,5% am

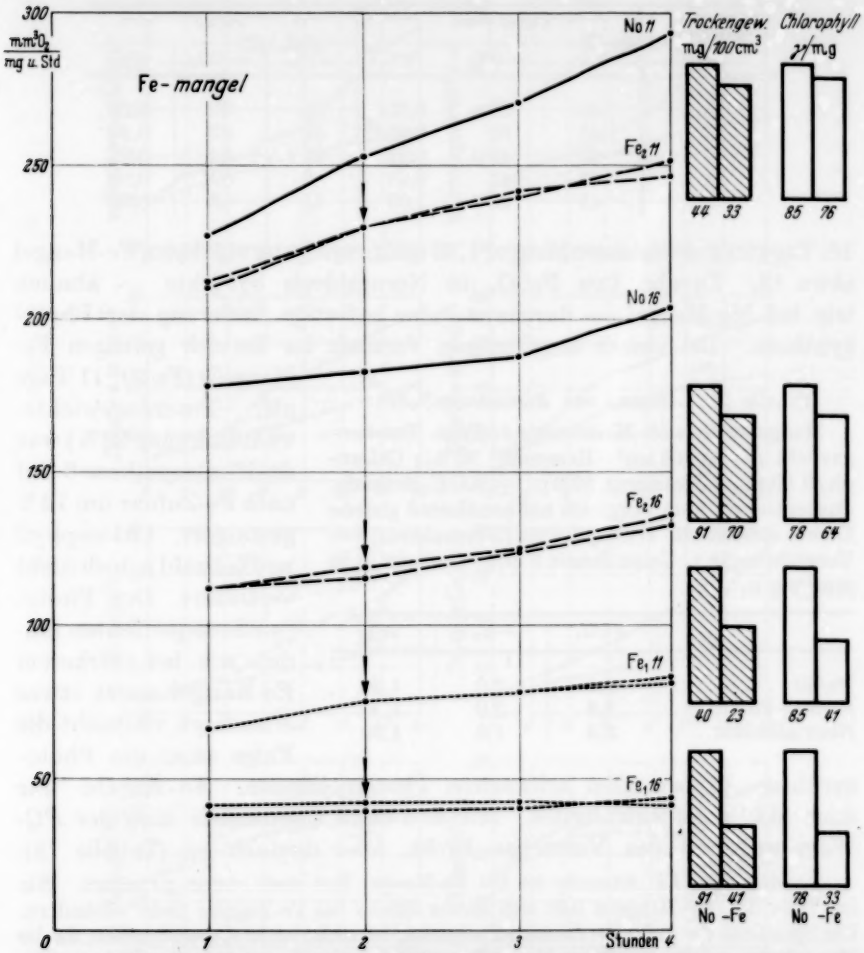


Abb. 13. Photosynthese von Eisenmangelkulturen verschiedenen Alters und Mangelgrades. $Fe_1$11 und $Fe_1$16: starker Fe-Mangel (Fe/60) am 11. und 16. Kulturtag. $Fe_2$11 und $Fe_2$16: schwacher Fe-Mangel (Fe/4) am 11. und 16. Kulturtag. No 11 und No 16: Normalkulturen am 11. und 16. Kulturtag. (Vgl. Abb. 4, 8, 11 und 15.)

11. Anzuchttage, Monat des Versuchsansatzes: August). Der Vergleich von Wachstumsdaten, Chlorophyllgehalt und Photosynthese ergibt auch hier einen durchaus graduierten Abfall. Zwischen Trockengewicht, Photosynthese und Chlorophyll besteht zwar keine genaue Proportionalität, die Abweichung von derselben ist aber viel geringer als in anderen Mangelfällen. Der Quotient Photosynthese/Chlorophyll beträgt hier am

Tabelle 13. *Photosynthesequotient bei stärkerem Eisenmangel.*
Mangelgrad Fe/50. Kulturalter 12 Tage. Photosynthesehemmung im Starklicht etwa 70%. $FeSO_4$-Zusatz nach der 2. Std (↓). GD-Methode. Gasumsatz in mm^3 O_2/mg/Std.

Versuchsstunden	Fe/50 + Fe			Fe/50		
	$+O_2$	$-CO_2$	*PQ*	$+O_2$	$-CO_2$	*PQ*
1	54	63	0,86	54	60	0,90
2 ↓	46	50	0,92	49	52	0,94
3	45	49	0,92	50	54	0,92
4	46	48	0,96	48	49	0,98
5	45	45	1,00	45	46	0,98

16. Tage im schwächeren Mangel 1,85 und erreicht im stärksten Fe-Mangel etwa 13. Zugabe von $FeSO_4$ in Normaldosis bewirkte — ähnlich wie bei Mg-Mangel — durchaus keine sofortige Änderung der Photosynthese. Bei einem langfristigen Versuch im Bereich geringen Fe-Mangels (Fe/50, 11 Tage alt, Trockengewichtsverminderung 22%) war die Photosynthese 8 Std nach Fe-Zufuhr um 12% gesteigert, Chlorophyll und Zellzahl jedoch nicht verändert. Den Photosynthesequotienten fanden wir bei stärkerem Fe-Mangel meist etwas erniedrigt, vielleicht die Folge einer die Photosynthese begleitenden schwachen Photooxydation. Fe-Zugabe war auch hier ganz wirkungslos. Mit und ohne Eisenzusatz stieg der *PQ*-Wert während des Versuches leicht, aber deutlich an (Tabelle 13).

Tabelle 14. *Atmung von Eisenmangelzellen.*
Mangelstufe *m*/50. Kulturalter 14 Tage. Trockengewicht 28 mg/100 cm^3 (Hemmung 70%); Chlorophyll 50/mg (Hemmung 59%). ± KOH-Methode. Suspensionen zum Vergleich auf annähernd gleiche Dichte eingestellt. $FeSO_4$-Zusatz (Normaldosis) vor Versuchsbeginn. Versuchszeit 5 Std. Gasumsatz in mm^3/mg u. Std.

	$+CO_2$	$-O_2$	*RQ*
Fe/50	2,4	2,0	1,20
Fe/50+Fe . . .	2,6	2,0	1,30
Normalkultur . .	2,3	1,8	1,28

b) Atmung. Die Atmung ist bei Fe-Mangel fast stets etwas gesteigert. Wie im Falle des Mg-Mangels läßt sich dieser Effekt bei Fe-Zugabe nicht verändern. Die Spezifität der geringen Atmungssteigerung ist nicht leicht sicherzustellen, da die Mangelsuspensionen und ihre Normalkontrollen wahrscheinlich in ihrem Atmungsverhalten nicht ausschließlich von dem mineralischen Faktor bestimmt sind, sondern von sekundären Faktoren wie Suspensionsdichte, Kohlenhydratreserve u. ä. Tabelle 14 zeigt einen zusammengefaßten Atmungsversuch.

VIII. Manganmangel.

1. Wachstumsverlauf und Chlorophyllbildung.

Die Manganmangelanzucht erfolgte in einfacher Weise durch Weglassen des Mangans aus der normalen Nährlösung, also nicht bei abgestufter Mangandosierung. Von Beginn der Kultur an setzt in langsam

zunehmendem Maße der Mangelzustand ein, der in diesem Falle nicht zur völligen Stillegung des Wachstums führt. Abb. 14 enthält zum Vergleich die Daten je einer Normal- und Manganmangelanzucht in

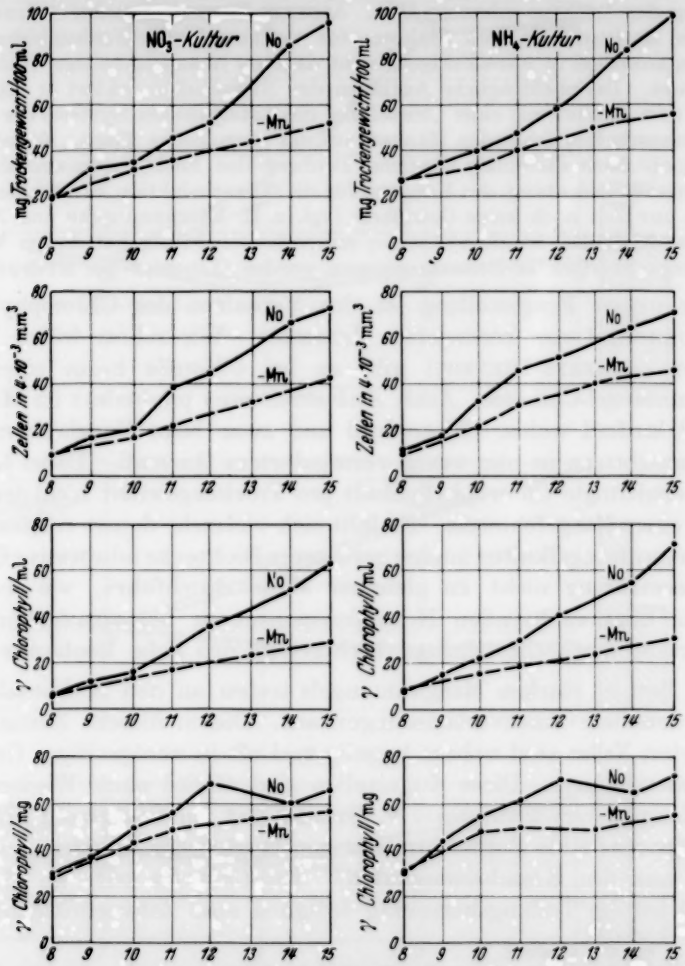


Abb. 14. Trockengewichtsproduktion, Zellvermehrung und Chlorophyllbildung von *Ankistrodesmus* bei Manganmangel. Vergleich von Nitrat- und Ammonkultur. (Vgl. hierzu Abb. 3, 7, 10 und 12.)

einer Nährlösung mit Ammon- und Nitratstickstoff. Einen grundlegenden Unterschied in der Verwertung beider N-Quellen konnten wir in Bestätigung und Ergänzung der Angaben von ALBERTS-DIETERT an *Chlorella* nicht feststellen. Unter autotrophen Bedingungen übt Mangan bei *Ankistrodesmus* keine spezifische Funktion im Mechanismus der

Nitratassimilation aus, wie sie für heterotrophe Wurzeln von Burström beschrieben worden ist.

Dieser erneut negative Befund verdient Erwähnung mit Rücksicht auf die Mitteilung von Kylin, daß Ulva nur im Falle der Nitraternährung eine günstige Wirkung des Mangans erkennen läßt. Alberts-Dietert hat bei Aufzucht von *Chlorella* in Gegenwart von Glukose eine vorübergehende Wachstumshemmung bei Manganmangel in nitrathaltiger, nicht dagegen in ammonhaltiger Nährlösung beobachtet. Das nachträgliche Aufholen der Nitratkultur erklärt er (vgl. auch Noack und Pirson) mit einer Umstellung des katalytischen Systems der Nitratreduktion von dem fehlenden Mangan auf das vorhandene Eisen. Es sei dahingestellt, ob damit die einzig mögliche Deutung des Effekts gegeben ist. Über eine generelle Bedeutung des Mangans für die Nitratreduktion bzw. -assimilation besteht zur Zeit noch keine Gewißheit (vgl. z. B. Friederichsen und Nance); auch das Molybdän ist als wirksamer mineralischer Faktor bei diesem Vorgang neuerdings mehrfach in Betracht gezogen worden (Literatur bei Mulder).

Für unsere Fragestellung ist das Verhalten des Chlorophylls bei Manganmangel von besonderem Interesse. Wie schon früher betont (Pirson, Alberts-Dietert) gibt es bei *Chlorella* keine eigentliche Manganmangel-Chlorose. Auch *Ankistrodesmus* produziert im Manganmangel laufend weiter Chlorophyll und zwar beim Vergleich mit der Trockensubstanz in nur wenig vermindertem Ausmaß. Dabei hat der etwas erniedrigte Chlorophyllgehalt pro Trockengewicht nicht den Charakter einer Mangelchlorose. Er läßt sich vielmehr damit erklären, daß die Manganmangelkultur infolge geringerer Dichte die adaptative Chlorophyllvermehrung nicht im gleichen Maße durchführt, wie man sie in den heranwachsenden Normalsuspensionen bei zunehmend vermindertem durchschnittlichem Lichtgenuß pro Zelle beobachtet.

Im Bereich starken Manganmangels treten an den *Ankistrodesmus*-zellen deutliche Formveränderungen auf. Die in diesem Zustand neu gebildeten Zellen sind nahezu kugelig und oft in wenigzelligen Gruppen zusammengelagert. Diese Kugelzellen sind 48 Std nach Wiederzufuhr von Mangan verschwunden. v. Stosch hat an Diatomeen ebenfalls auffällige reversible Formveränderungen beschrieben (Austritt von Zellblasen aus den Kieselsäureschalen). Bei *Chlorella* tritt im Manganmangel infolge Teilungshemmung lediglich eine Zellvergrößerung ein.

2. *Stoffwechsel.*

a) Photosynthese im Starklicht. Die beiden ersten der 3 Mangelstufen der Abb. 15 stammen aus einer manganfrei angesetzten Kultur (13. und 16. Kulturtag). Die 3. Stufe stärksten Manganmangels ist durch Überimpfen von Manganmangelzellen in Nährlösung ohne Mangan erhalten worden (2. Passage). Diese Kultur wurde am 19. Kulturtag nach fast völliger Sistierung des Wachstums zum Photosyntheseversuch verwendet.

Schon in der 1. Mangelstufe ist die Photosynthese deutlich gehemmt. Da die Leistung einer vergleichbaren Normalkultur bei etwa 180 mm³ O_2 je Milligramm und Stunde liegt, beträgt die Hemmung etwa 50%,

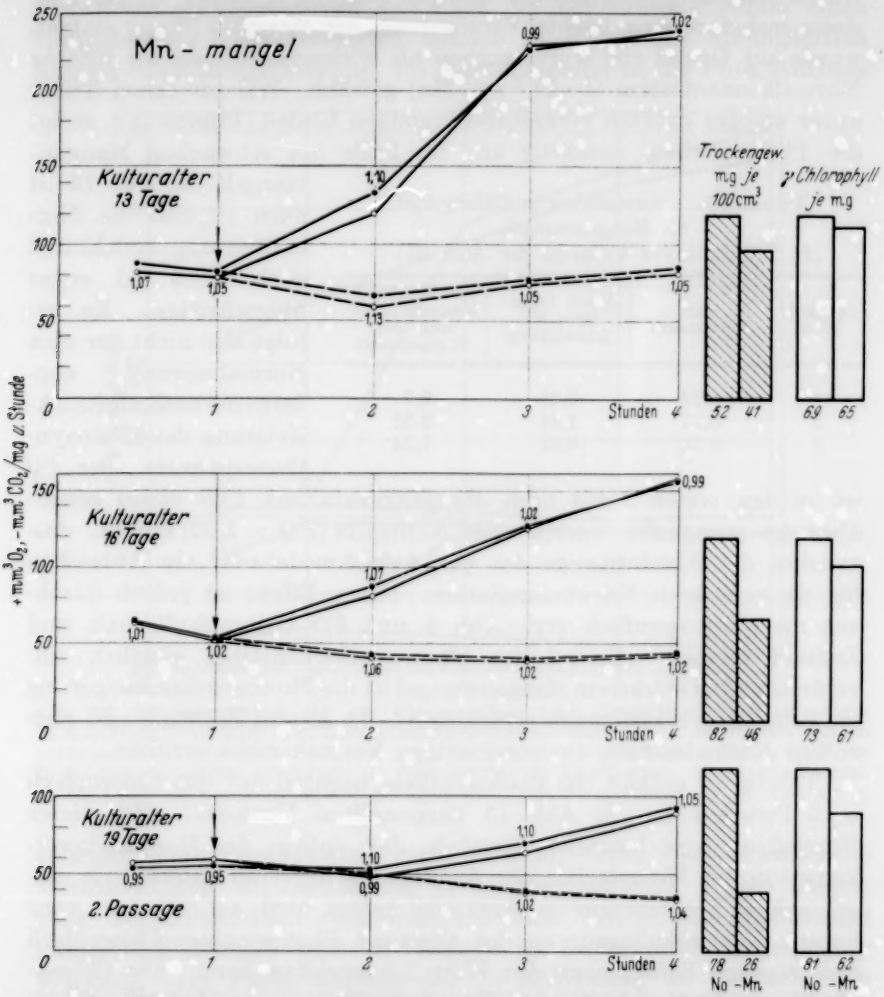


Abb. 15. Photosynthese von Manganmangelkulturen verschiedenen Mangelgrades. Wirkung der Manganzugabe. Die Zahlen in den Diagrammen bezeichnen die jeweiligen PQ-Werte. Punkte: O_2-Abgabe; Kreise: CO_2-Aufnahme. Näheres s. Text. (Vgl. auch Abb. 4, 8, 11 und 13.)

während das Trockengewicht nur um 21%, der Chlorophyllgehalt um 6% vermindert ist. Bei der 2. Mangelstufe ist die Photosynthesehemmung weiter verstärkt, bei der 3. Mangelstufe aber auf annähernd dem gleichen Stand verblieben. Dieser Endwert (55 mm³ O_2) je Milligramm und Stunde liegt im Vergleich zu anderen Mangelzuständen verhältnismäßig

hoch. Der Photosynthesequotient, der in dieser Versuchsreihe laufend bestimmt wurde, besitzt mit zunehmendem Manganmangel einen deutlich abfallenden Gradienten. Zwei Stunden nach Versuchsbeginn wurde den Mangelsuspensionen Mangan zugeführt; da bei der Normaldosis mehrfach eine leichte Verzögerung der Manganwirkung eintrat, wurde auf Grund von Vorversuchen als wirksamste Dosis die 10fache Normalkonzentration ($1 \cdot 10^{-5}$ mol Mn) gewählt. Wie wir schon früher unter weniger exakten Versuchsbedingungen fanden [Pirson (1)], steigt die Photosynthese ruckartig an; im Falle des schwachen Manganmangels der Abb. 15 ist nach $1^1/_2$ Std die Normalleistung erreicht und nach 2—3 Std sogar überschritten. Es erfolgt also nicht nur eine Normalisierung, sondern eine zusätzliche Aktivierung des Photosyntheseapparats. Der PQ ist in den ersten 3 Std nach Manganzusatz mit 1,08 etwas gegenüber der manganfrei verbliebenen Kontrolle ($PQ = 1{,}02$) erhöht, desgleichen die Absolutmenge des CO_2-Aufnahmedefizits, ein Anzeichen für die verstärkte Nitratassimilation. Dieser Effekt ist jedoch durchaus nicht Mn-spezifisch (vgl. Abb. 4 und 9). Chlorophyllgehalt und Zellzahl bleiben während des Photosyntheseanstiegs gänzlich unverändert. Bei stärkerem Manganmangel ist die Photosynthesesteigerung im Erholungsverlauf etwas verlangsamt. In diesem Zustand wird eine völlige Normalisierung im kurzfristigen Versuch nicht erreicht.

Tabelle 15. *Photosynthese je Chlorophyll bei Manganmangel.* (In 3 Stadien des Versuchs der Abb. 15.)

Mangelstufe	Vor Mn-Zusatz	Nach 1stündiger Mn-Einwirkung	Bei Maximalleistung innerhalb der Versuchszeit
1	1,24	2,05	3,7
2	0,77	1,44	2,55
3	0,72	0,87	1,54

Tabelle 15 enthält die Photosynthese bezogen auf das Chlorophyll in 3 Perioden des in Abb. 15 dargestellten Versuchs. Mit dieser Darstellung wird besonders deutlich, daß infolge der Manganeinwirkung auf die Mangelzellen die Ausnutzung der vom Chlorophyll eingebrachten Lichtenergie im Starklicht besser wird, als selbst in ganz jungen Normalkulturen, wo der Quotient Photosynthese/Chlorophyll nach unseren Erfahrungen den Wert 2,5 erreichen kann. Die Chlorophyllkonzentration bestimmt die obere Grenze der Leistungsfähigkeit des Photosyntheseapparats im kontinuierlichen Starklicht ebensowenig wie dessen Leistung in den verschiedenen Mangelzuständen.

Ähnlich wie im Fall des Kalimangels (Abb. 5) wurde die Manganwirkung auf die Photosynthese nach *Vor*behandlung der Mangelzellen mit Mangan *im Dunkeln* untersucht. Die Vorbehandlung wurde dabei 3 Std vor der Belichtung stets in der Anzuchtnährlösung, die Photosynthesemessungen teils in Nährlösung, teils in Kaliumkarbonat-Bi-

karbonatpuffer vorgenommen. Abb. 16 zeigt, daß die mit Mangan vorbehandelten Suspensionen bei Belichtung in Nährlösung mit einer um etwa 100% gesteigerten Photosynthese beginnen. Die unbehandelten Kontrollen erhielten einige Zeit nach der Belichtung ebenfalls einen Manganzusatz. Sie erreichten danach in Kürze mit sprunghaftem Anstieg dieselbe Endleistung. Im Karbonatpuffer ist die Photosynthese

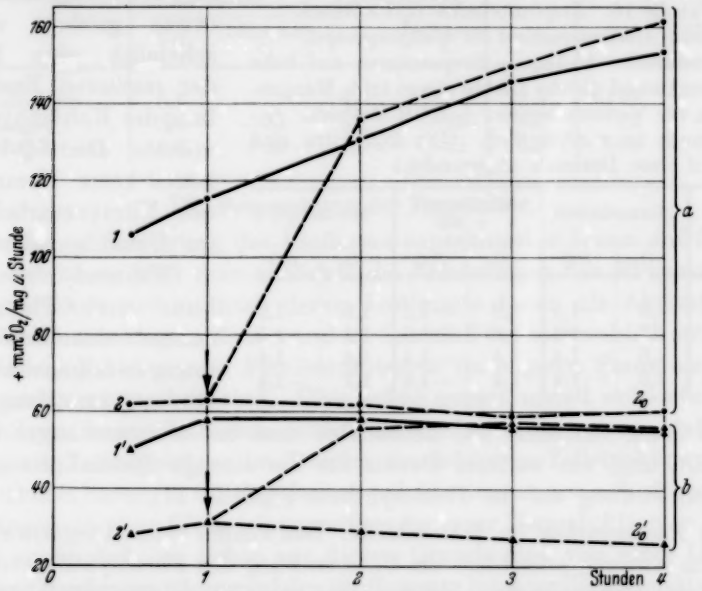


Abb. 16. Manganwirkung auf die Photosynthese nach Dunkelvorbehandlung, sowie m $KHCO_3$-K_2CO_3-Puffer. a In Anzuchtlösung (auf pH 4,5 eingestellt): 1 im Dunkeln mit Mn vorbehandelt; 2 unvorbehandelt, bei ↓ mit Mn versehen; 2_0 wie 2, ohne Mn. b Kurz vor Belichtung in Puffer überführt: 1′ vorbehandelt (in Nährlösung); 2′ unvorbehandelt, bei ↓ mit Mn versehen; $2'_0$ wie 2′, ohne Mn. $PQ = -1$ gesetzt. (Vgl. Abb. 5.)

generell stark herabgesetzt (vgl. Abb. 5). Auch hier bewirkt die Vorbehandlung in Nährlösung prozentual etwa die gleiche Steigerung. Im Unterschied zum entsprechenden Versuch bei Kalimangel kommt das Mangan auch bei Zugabe im Puffer selbst sogleich zur Wirkung. Im Puffer entfällt der in Nährlösung zu beobachtende langsame Folgeanstieg der Kurve, der nach unseren Erfahrungen zum Teil auf Substanzvermehrung, in erster Linie aber auf eine mit der Nitratassimilation zusammenhängende Erhöhung des PQ zurückzuführen ist, der im vorliegenden Fall nicht gesondert bestimmt wurde.

Es kann somit als gesichert angesehen werden, daß die Wirkung des Mangans auf die Photosynthese unabhängig von den Vorgängen bei Wachstum und Chlorophyllproduktion ist.

b) Atmung. Für die Beurteilung der Spezifität der Manganwirkung auf die Photosynthese ist wichtig, daß keinerlei Anzeichen für eine gleichzeitige Beeinflussung der Atmung vorliegen, wie sie bei Kalium- und Phosphormangel beobachtet wird. Respiratorischer Sauerstoffverbrauch und Atmungsquotient weichen nicht von denjenigen normaler Suspensionen ab (Tabelle 16). Lediglich der zeitliche Abfall der Atmung ist bei Manganmangel etwas größer, wahrscheinlich eine Folge der rascheren Erschöpfung des Kohlenhydratvorrats. Die *RQ*-Werte lassen keine Hemmung der Nitratverarbeitung im Dunkeln erkennen.

Tabelle 16. *Respiratorischer O_2-Verbrauch und Atmungsquotient bei Manganmangel.* Kulturalter 13 Tage. Suspensionen auf hohe und annähernd gleiche Dichte eigesn tellt. Manganzusatz vor Versuchsbeginn. ± KOH-Methode. O_2-Verbrauch in mm³/mg/Std. (Die *RQ*-Werte sind die auf erste Dezimale abgerundet.)

Meßzeit	Normalzellen		Mn-Mangel + Mn		Mn-Mangel	
Std	$-O_2$	*RQ*	$-O_2$	*RQ*	$-O_2$	*RQ*
1—2	1,9	—1,5	1,9	—1,5	1,8	—1,5
3—4	1,7	—1,4	1,5	—1,5	1,4	—1,5
5—6	1,6	—1,4	1,4	—1,4	1,4	—1,4
7—8	1,6	—1,4	1,4	—1,4	1,3	—1,4

Während bei Kalium- und Phosphormangel die Zusatzatmung in Gegenwart von Glukose im Mangelzustand stark betroffen ist, beobachtet man bei Manganmangel keine Veränderung, ein weiterer Beweis für die strenge Beschränkung der Manganwirkung auf die Photosynthese (Tabelle 17).

c) Photosynthese im Schwachlicht. Das Fehlen einer Manganwirkung auf die Atmung erleichtert die Untersuchung des Photosyntheseverhaltens im Schwachlicht, welches für die Frage des Mechanismus der Manganwirkung von Bedeutung ist. Hier läßt sich sicher nachweisen, daß apparente *und* reelle Photosynthese (Photosyntheseüberschuß + Dunkelatmung) von der Manganwirkung betroffen sind. Manganzusatz führt zu einer Aktivierung der Photosynthese über deren Normalleistung hinaus. Bei dem im Versuch der Tabelle 18 vorliegenden Mangelzustand wird während der 3stündigen Versuchszeit im Starklicht eine Normalisierung der Photosynthese im Erholungsverlauf knapp erreicht.

Tabelle 17. *Glukoseatmung von Manganmangelzellen* (± KOH-Methode).

Meßzeit	Normalzellen				Mn-Mangel				Mn-Mangel + Mn			
	ohne Glukose		mit 1 % Glukose		ohne Glukose		mit 1 % Glukose		ohne Glukose		mit 1 % Glukose	
Std	$-O_2$	*RQ*	$-O_2$	*RQ*	$-O_2$	*RQ*	$-O_2$	*RQ*	$-O_2$	*RQ*	$-O_2$	*RQ*
1.—2.	1,6	—1,3	13,1	—1,5	1,8	—1,5	12,3	—1,6	1,7	—1,4	12,3	—1,6
3.—4.	1,5	—1,4	14,4	—1,5	1,7	—1,4	13,8	—1,6	1,7	—1,4	13,4	—1,6

Tabelle 18. *Photosynthese von Mn-Mangelzellen im Schwachlicht.*
Lichtintensität 60 Lux an der Stelle der Manometergefäßböden. Trockengewichtshemmung der Mangelkultur 32%; Chlorophyllverminderung der Mangelkultur 11%; Dichte der Versuchssuspension 1 mg Trockengewicht pro Kubikzentimeter. O_2 mm³/mg u. Std. Meßzeit 3 Std, GD-Methode.

	Schwachlicht				Atmung	Starklicht	
	Photosynthese-überschuß		reelle Photosynthese				
	$+O_2$	Differenz %	$+O_2$	Differenz %	$-O_2$	$+O_2$	Differenz %
Normalkultur . .	5,1		6,6		1,5	175	
Mn-Mangel . . .	3,4	—33	5,1	—23	1,7	72	—59
Mn-Mangel + Mn	6,2	+22	8,0	+21	1,8	165	—6

IX. Besprechung der Ergebnisse.

Bei einer Erörterung des Einflusses anorganischer Ionen auf Stoffwechselprozesse wird man zunächst die Erfahrungen der Enzymologie heranzuziehen suchen, nach denen bestimmte Ionen als Aktivatoren von Fermentreaktionen dienen und im Grenzfall bei nachweislich stöchiometrischer Beziehung zu Fermentproteinen im engeren Sinne als Kofermente anzusprechen sind. Über solche experimentell wohldefinierte Wirkungen hinaus hat man jedoch in Rechnung zu setzen, daß die Ionen als Ladungsträger im Bereich der lebenden Zellstrukturen die Möglichkeit haben, in die Regulation und Abstimmung von Stoffwechselvorgängen in einer Weise einzugreifen, die einer Reproduktion in vitro nicht zugänglich ist. Schon aus diesem Grunde sind von einer Untersuchung der Ionenwirkung auf den Stoffumsatz intakter Zellen zusätzliche und unter Umständen neuartige Erkenntnisse zu erwarten. Die Photosynthese bildet zudem einen Sonderfall, in dem es bisher unmöglich gewesen ist, den Reaktionsablauf von dem komplexen System der Chloroplastenstruktur zu lösen, wie es auch in den photochemisch wirksamen sog. Granulasuspensionen wenigstens partiell noch vorliegt. Wie verschieden aber bereits das Verhalten solcher Chloroplastenpräparate gegenüber Ionen von demjenigen intakter Zellen ist, zeigt z. B. die aktivierende Wirkung von Chloriden von relativ hoher Konzentration ($m/150$) bei der photochemischen Wasserspaltung in Gegenwart zellfremder H-Akzeptoren, wie p-Chinon (Warburg und Lüttgens). In der lebenden Zelle fehlt offenbar ein entsprechender Chlorideffekt; denn das ernährungsphysiologische Experiment zeigt an den für die Plastidengewinnung benutzten Pflanzen keinen vergleichbaren Chloridbedarf (Arnon und Whatley). Auch wir haben vergeblich versucht, bei der Kultur von *Ankistrodesmus* und *Chlorella* einen Chlormangel herbeizuführen. Die Photosynthese der im Rahmen experimenteller Möglichkeiten chlorfrei angezogenen und völlig normal erscheinenden Algen spricht auf Chloridzusatz (unterhalb

stark osmotisch wirksamer Konzentrationen) nicht im geringsten an. Wir stimmen daher den amerikanischen Autoren zu, welche die Chloridwirkung in den Granulasuspensionen als eine Stabilisierung auffassen, die erst *nach* der Präparation erforderlich wird. In der Zelle sind es offenbar andere Faktoren — möglicherweise andere Ionen —, welche die volle Funktionsfähigkeit des Photosyntheseapparats sicherstellen[1].

Für die Wirkung der einzelnen Ionen auf die Photosynthese besteht eine Reihe von Möglichkeiten, die von Fall zu Fall erörtert werden müssen.

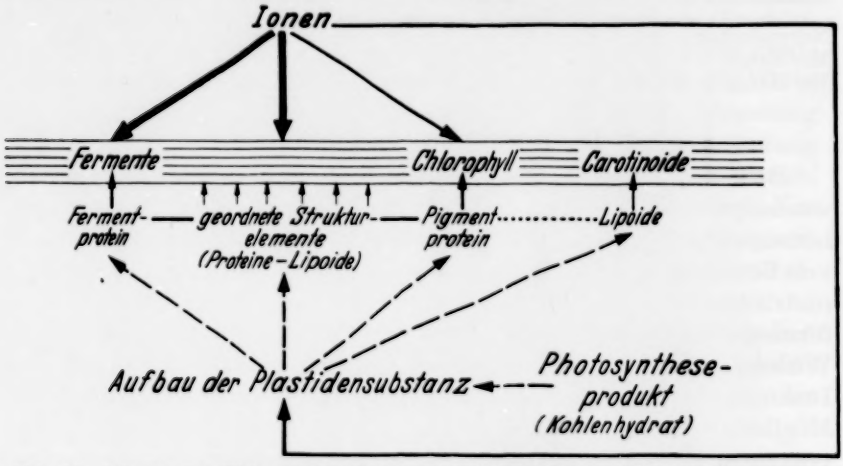


Abb. 17. Schema der Wirkungsmöglichkeiten von Ionen auf den Photosyntheseapparat wachsender Zellen. Erläuterung im Text.

Hierzu sei ein allgemeines Schema gegeben, dem keinerlei morphologische Detailvorstellungen unterlegt sind (Abb. 17). Der Photosyntheseapparat kann im einfachsten Fall einer *unmittelbaren* (direkten) Ionenwirkung dadurch unterworfen sein, daß der mineralische Faktor durch Bildung eines Metallproteids ein Ferment komplettiert. Wohl nur graduell verschieden davon ist der Fall, daß neben streng spezifischen Fermentproteinen die Strukturelemente des Plastiden an ihren für den Optimalverlauf der Photosynthese maßgeblichen Oberflächen durch Entzug oder Zufuhr von Ionen verändert werden. Solche Strukturoberflächen des Photosyntheseapparats, in welche die Fermente und Pigmente eingebaut sind, haben wir in Abb. 17 willkürlich durch parallele Linien markiert. Kurzfristig reversible Photosyntheseveränderungen bei Mineralsalzmangel führen wir auf solche unmittelbare Ionenwirkungen zurück (stark ausgezogene Pfeile), ohne jedoch damit die

[1] Warburg und Lüttgens haben ihrerseits bereits darauf hingewiesen, daß auch in vitro die Chloride wenigstens partiell durch andere Salze ersetzt werden können (Bromide, Jodide und Nitrate).

Reversibilität als generelles Kriterium *jeden* direkten Mangeleffektes zu betrachten. — Unter unseren Versuchsbedingungen wird jedoch nicht nur der ausgebildete Photosyntheseapparat vom Mineralsalzmangel betroffen, sondern auch der Aufbau der Plastiden mit ihren Strukturelementen im Laufe der Mangelanzucht ungünstig beeinflußt (*mittelbare* oder indirekte Ionenwirkung, schwach ausgezogene Pfeile). In der weiteren Folge (punktierte Pfeile und Linien) kommt es dann in allen Teilen des Photosyntheseapparats zu Störungen, die untereinander in ihrem Ausmaß differieren können. So kann die Chlorophyllbildung im Zusammenhang mit der Proteinsynthese in Mitleidenschaft gezogen sein. Daneben gibt es wohl auch einen spezifischen Einfluß auf die Bildung des Chlorophyllmoleküls. Alle mittelbaren Ioneneffekte machen sich bei Mangeleintritt und besonders im Erholungsverlauf nicht kurzfristig bemerkbar. Von *sekundärer* Aufbauhemmung kann man schließlich sprechen, wenn die infolge mittelbarer oder unmittelbarer Ioneneinwirkung verminderte Photosynthese nicht mehr ausreichend Baumaterial für neue photosynthetisch wirksame Plastidensubstanz zu liefern vermag.

Die kausalanalytische Bewertung von Ionenwirkungen in vivo nach diesen Gesichtspunkten ist natürlich dadurch erschwert, daß verschiedene Effekte oftmals in Kombination auftreten. Hinzu kommt, daß die hier vorgelegte Arbeit infolge ihrer methodischen Beschränkung und des extensiv vergleichenden Vorgehens zunächst mehr Fragen aufwirft als beantwortet. Immerhin bietet schon die genaue Registrierung der zeitlichen Veränderung im Wachstums- und Stoffwechselverhalten beim Eintritt in den Mangelzustand und im Erholungsverlauf die Aussicht, das Wirken der mineralischen Faktoren in der grünen Pflanze zumindest beschreibend schärfer als bisher zu erfassen. — In der folgenden Einzelbehandlung haben wir das Schrifttum über einschlägige Befunde an höheren Pflanzen nicht vollständig berücksichtigt, da der Vergleich mit diesen aus methodischen (und bis zu einem gewissen Grade auch prinzipiellen) Gründen anders zu wertenden Objekten späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben muß.

Zur Erleichterung der Diskussion sind die stoffwechselphysiologischen Hauptbefunde tabellarisch zusammengefaßt (Tabelle 19).

Am übersichtlichsten liegen die Verhältnisse beim *Mangan*mangel. Der Kulturversuch zeigt, daß Chlorophyllbildung und Nitratassimilation selbst im ausgesprochenen Mangelzustand nicht direkt betroffen sind. Auch die Atmung, die sonst auf Ionenmangel anzusprechen pflegt, verhält sich mit und ohne Glukosezusatz durchaus normal. Als *einziges* Mangelkennzeichen tritt zunächst nur die starke Photosynthesehemmung auf. Diese ist anfänglich völlig reversibel; der Photosyntheseapparat wird sogar nach Mn-Zusatz bald soweit aktiviert, daß er eine in dieser

Tabelle 19.

Mangel-Ion	Photosynthese im Starklicht		Chlorophyll	Atmung	
	im Mangelzustand	bei Erholung		im Mangelzustand	bei Erholung
Mn^{++}	starke Hemmung bereits bei beginnendem Mangel	Hemmung zunächst völlig reversibel	keine Chlorose	unverändert	kein Einfluß
K^{+}	starker Abfall bereits bei Mangelbeginn	Hemmung zunächst weitgehend reversibel, später andauernd	zunächst kaum Chlorose	Steigerung	rasche Senkung
Mg^{++}	zunehmendes Absinken	Hemmung nicht kurzfristig reversibel	rasch fortschreitende Chlorose	Steigerung	Steigerung nicht kurzfristig reversibel
Fe^{++}	zunehmendes Absinken	Hemmung nicht kurzfristig reversibel	Chlorose nur langsam zunehmend	geringe Steigerung	Steigerung nicht kurzfristig reversibel
$H_2PO_4^-$	zunehmendes Absinken	Hemmung auch im starken Mangel noch partiell reversibel	ausgeprägte Chlorose im späten Mangelstadium	geringe Steigerung (ob reell?)	weitere rasche Zunahme

Höhe selbst bei jungen Normalkulturen von uns nicht beobachtete Leistungsfähigkeit erreicht. Man sieht an diesem Fall besonders deutlich, daß die Photosynthese im kontinuierlichen Starklicht nicht vom Chlorophyllgehalt bestimmt wird.

Bei länger anhaltendem Manganmangel wird der Erholungsverlauf der Photosynthese gebremst und führt dann auch nicht mehr zu völliger Normalisierung. In diesem Zustand beginnen allmählich auch die morphologischen Veränderungen an den Zellen sichtbar zu werden, welche im Falle des extremen Manganmangels besonders auffällig sind. Die schon früher aufgefundene Manganwirkung auf die Photosynthese von *Chlorella* [Pirson (1)] ist damit für *Ankistrodesmus* als primäre und direkte Ionenwirkung eindeutig bestätigt. Zu ihrer näheren Kennzeichnung ist wichtig, daß die reversible Photosynthesehemmung auch im Schwachlicht nachgewiesen werden konnte, wenngleich Hemmung und Erholungseffekt hier ein etwas geringeres relatives Ausmaß haben. Da bekanntlich Narkotika (z. B. Urethane) die Photosynthese im Stark- *und* Schwachlicht hemmen (Warburg und Negelein) könnte man

formal die Manganmangelzellen mit narkotisierten Normalzellen in Vergleich setzen; die gleichzeitige Atmungssteigerung allerdings haben sie mit diesen nicht gemeinsam. Manganzusatz würde reversibel blockierte Zellstrukturen ebenso kurzfristig reaktivieren, wie dies bei der Entfernung oberflächenaktiver Hemmstoffe der Fall ist. Nach den allgemeinen Erfahrungen bezüglich vieler Schwermetallwirkungen erscheint es freilich befriedigender, dem Manganion eine spezifische Kofermentfunktion zuzuschreiben. In diesem Zusammenhang halten wir es für bemerkenswert, daß außer den Narkoticis auch Hydroxylamin die Algenphotosynthese unabhängig von der Lichtintensität hemmt (WELLER und FRANCK). Dieses — als Katalasegift mehrfach beschrieben — wirkt wahrscheinlich auf das O_2-entbindende Ferment der Photosynthese, wofür besonders die geringe NH_2OH-Empfindlichkeit des H_2-adaptierten *Scenedesmus* spricht, der bekanntlich CO_2 im Licht ohne O_2-Abgabe reduziert (GAFFRON). Allerdings bedarf die *Schwachlicht*wirkung des NH_2OH auf einen fermentativen „Blackman"faktor einer besonderen Erklärung, welche WELLER und FRANCK mit der Annahme zu geben suchen, das O_2-abspaltende Enzym unterliege seinerseits einer lichtabhängigen Aktivierung. Weitere Untersuchungen haben zusätzliche Argumente für oder gegen die Hypothese beizubringen, daß das O_2-abspaltende Ferment als wirksames Ion Mangan enthält.

Unmittelbare Beziehungen des Mangans zur Photosynthese nimmt neuerdings auch GERRETSEN an. Er findet (1) die CO_2-Assimilation von Mn-Mangelpflanzen (Hafer) auf etwa 25—40% des Normalwerts erniedrigt; der primäre Charakter dieses Effekts hat sich in diesem Fall nicht mit voller Deutlichkeit aufzeigen lassen. Noch weniger sicher erscheinen die Schlüsse, die sich aus vergleichenden Bestimmungen der Trockengewichtsproduktion von Normal- und Mangelpflanzen ziehen lassen (PORTSMOUTH). In Suspensionen isolierter Chloroplasten erhöhen nach GERRETSEN (2) Mn^{++}-Ionen in Abhängigkeit von Belichtung und O_2-Gehalt das Redoxpotential so stark, daß mit einer Peroxydbildung gerechnet werden muß. Ob bei der Photosynthese in vivo eine dieser Beobachtung entsprechende Reaktion mitspielt, ist freilich unsicher[1]. GERRETSEN erörtert zugleich die Möglichkeit, daß Mn in Kombination mit Eisen bei der Stabilisierung der primären Spaltprodukte des Wassers eine Rolle spielt. Die Frage des Zusammenwirkens von Eisen und Mangan, die heute vielfach diskutiert wird, haben wir bei unseren Experimenten vorerst zurückgestellt, da sich hierfür keine unmittelbaren Anhaltspunkte ergaben. — Anläßlich ihrer Versuche zur Bestimmung der photochemischen Ausbeute an *Chlorella*suspensionen erwähnen EMERSON und LEWIS (1) [vgl. auch (2)] beiläufig ohne Angabe genauerer Daten, daß unter den Spurenelementen, welche ihre Ergebnisse im positiven Sinne beeinflußten, das Mangan die Hauptrolle spiele und kurzfristig wirksam sei. Dies ist bemerkenswert, da es sich um Messungen im Schwachlicht handelt, was mit unseren Versuchen — die ihrerseits natürlich nichts über die Quantenausbeute besagen — übereinstimmt. Erwähnt sei hier ferner der Nachweis von Mangan neben Eisen und Zink als Bestandteil der Chloro-

[1] Neuerdings hat MEHLER (persönliche Mitteilung von Prof. GAFFRON) gefunden, daß Mn^{++}-Ionen eine Photoxydation von Äthanol unter Bildung von H_2O_2 durch isolierte Chloroplasten begünstigen.

plastensubstanz (Warburg und Lüttgens). Arnon (1, 2), der in Rübenchloroplasten eine Polyphenoloxydase nachgewiesen hat, lenkt seinerseits die Aufmerksamkeit auf die mögliche Mitwirkung dieses kupferhaltigen Ferments in der Photosynthese.

Im Vergleich zum Mangan ist das *Kalium* erheblich weniger selektiv wirksam; seine Verknappung in der Zelle erzeugt mehrere Stoffwechselveränderungen, die sich nicht mit völliger Schärfe voneinander trennen lassen. Immerhin bestimmt schon bei geringem Kalimangel (schwache Wachstumshemmung und wenig verminderter Chlorophyllgehalt pro Trockengewicht) vornehmlich die reversible Photosynthesehemmung das Gesamtverhalten der Zellen. Diese Hemmung zeigt bei zunehmendem Mangel keinen stärkeren progressiven Abfall. Die Reversibilität der Photosynthese geht jedoch mit erhöhtem Mangelgrad weitgehend verloren, was eine nunmehr tiefgreifende Mangelwirkung anzeigt. Da Kalimangelzellen nie eine Anhäufung von Reserveprodukten zeigen, kommt diese wenigstens zum Teil auf dem Wege über eine Assimilatverknappung zustande. — Der Vergleich der Kalimangelzellen mit narkotisierten Normalzellen liegt besonders nahe, weil hier zu der Stark- *und* Schwachlichthemmung der Photosynthese als Mangelkennzeichen auch eine reversible Steigerung der Atmung kommt. Die Strukturaktivierung bzw. -stabilisierung durch Kalium dürfte dessen Hauptfunktion im Stoffwechsel sein. Doch beruht diese wohl nicht auf einem allgemein plasmatischen Effekt, der durch einfache, an Modellen gewonnene Vorstellungen (wie die einer Hydratations- oder Quellungsänderung des Plasmas) befriedigend gekennzeichnet wäre, sondern eher in einer feindifferenzierten Beeinflussung verschieden lokalisierter Reaktionssysteme von Photosynthese in Stark- und Schwachlicht, von Grundatmung und Glukosezusatzatmung, jeweils mit qualitativ oder quantitativ unterschiedlichen Folgen.

Es sei darauf verwiesen, daß sich in neuerer Zeit die Fälle mehren, in denen in vitro auch eine kofermentähnliche spezifische Wirkung des Kaliumions auf einzelne Enzymvorgänge nachgewiesen wurde. Boyer und Mitarbeiter berichten derartiges von der Phosphorylierung des Adenylsäuresystems, Lardy und Ziegler speziell von der Bildung des Adenosintriphosphats im Zuge der Dephosphorylierung von Phospho-enol-brenztraubensäure, Muntz von der Phosphorylierung des Fruktose-6-phosphats zu Harden-Youngester (Phosphohexokinase), d. h. von Reaktionen, die vielleicht auch für den fermentativen Teil des Photosyntheseverlaufs in Betracht zu ziehen sind (Calvin und Mitarbeiter). Roberts und Roberts vertreten auf Grund von Stoffwechselmessungen an *Escherichia coli* die Ansicht, daß Kalium insbesondere bei anaeroben Teilschritten des Kohlenhydratumsatzes erforderlich ist. Bei Hefen und anderen Pilzen beobachteten Hofmann und Scheck eine Aktivitätssteigerung hydrolytischer Fermente und der Katalase nach Anzucht in kalifreier Nährlösung.

Für den Stoffhaushalt der grünen Zellen ist von Bedeutung, daß im Zusammenwirken der beiden Kalimangelsymptome Photosynthesehemmung und Atmungssteigerung im Schwachlicht leicht eine negative

Stoffbilanz herbeigeführt wird, daß dieselbe aber — eine nicht zu tiefgreifende Mangelwirkung vorausgesetzt — durch Kaliumzufuhr sogleich in die positive Bilanz zurückverwandelt werden kann. Daß eine Kalidüngung am lichtarmen Standort eine besonders auffällige Förderung bewirken soll, wie mehrfach berichtet worden ist (vgl. RUSSELL, SCHARRER und SCHROPP), mag so einer einfachen physiologischen Erklärung zugänglich werden.

An dieser Stelle seien ohne ausführliche Erörterung nochmals die Argumente zusammengefaßt, welche in ihrer Gesamtheit gegen die gelegentlich geäußerte Auffassung (z. B. BUKATSCH) sprechen, die Rolle des Kaliums bei der Photosynthese beruhe lediglich auf einer Regulation des CO_2-Durchtritts zum Assimilationsort bzw. auf einer Spezialfunktion des Kaliumbikarbonats als CO_2-Überträger (ARENS):

1. Die Photosynthese ist nicht nur im Starklicht, sondern auch bei dem viel geringeren Gasumsatz im Schwachlicht durch Kaliummangel betroffen.

2. Erhöhung der CO_2-Konzentration von 2 auf 10 Vol.-% im Gasraum, d. h. Vergrößerung des Diffusionsgefälles Außenmedium—Zelle, ist ohne Einfluß auf die gehemmte Photosynthese der Kalimangel-Algen (eigene unveröffentlichte Versuche).

3. Die reversible Steigerung der Atmung bei Kalimangel ist mit einer Beeinflussung der CO_2-Permeabilität nicht zu erklären und zeigt die Wirkung des Kaliums auf intrazelluläre, strukturelle Faktoren an.

4. Kalium ist als Bestandteil des Chloroplasten nachgewiesen (MENKE), kann also am Photosyntheseort angreifen und nicht etwa nur im Zytoplasma oder dessen Grenzschichten.

5. *Ankistrodesmus* ist im Gegensatz zu anderen Wasserpflanzen (*Helodea*, *Hydrodictyon* u. a.) unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen frei von Karbonaten und Bikarbonaten.

6. Im Vergleich zu großen Pflanzenzellen dürften die kleinen Zellen der verwendeten Algen einer weniger starken Beeinflussung durch Permeabilitätsfaktoren unterliegen. Hierzu muß jedoch kritisch bemerkt werden, daß auch bei unserem Objekt unter Umständen eine Hemmung der Ionenaufnahme vorzukommen scheint (Versuche mit Karbonatpuffer, S. 213).

Bei der vielseitigen Beteiligung der *Phosphate* am dissimilatorischen und assimilatorischen Stoffumsatz und ihrer mehrfach erwiesenen bzw. diskutierten Sonderrolle im Mechanismus der Energieübertragung ist nicht zu erwarten, daß eine Beobachtung des Wachstumsverlaufs und die Registrierung manometrischer Effekte von sich aus zu einer klaren Sonderung verschiedener Angriffspunkte des Phosphats in der grünen Zelle ausreichen. Bei Beginn des Phosphatmangels verhält sich die Photosynthese ähnlich wie im Bereich schwachen Kalimangels. Auch der Chlorophyllgehalt ist in beiden Fällen anfänglich wenig betroffen: später tritt jedoch im Phosphormangelzustand eine so kräftige Chlorose ein, daß eine spezifische Störung der Chlorophyllbildung wahrscheinlich ist. Auf eine Spezialfunktion des Phosphats bei der Chlorophyllproduktion weisen auch analytische Angaben von J. H. C. SMITH hin, der ätherlösliche Phosphate als Begleiter bzw. Vorstufen der Chlorophyllbildung gefunden hat. Trotz der starken

Chlorose bleibt ein reversibler Anteil der Photosynthesehemmung bis in den Bereich stärksten Phosphormangels mit beinahe völlig stillgelegter Photosyntheseleistung erhalten, also viel länger als im Falle des Kaliummangels und Manganmangels. Eine Wirkung des Phosphations auf die wirksamen Strukturen des Photosyntheseapparats muß also in Betracht gezogen werden. Bemerkenswert ist das Verhalten der Atmung von Phosphormangelsuspensionen. Sie ist nicht vermindert, sondern eher etwas erhöht, und steigt sogleich bei Phosphatgabe weiter an, so daß für den Erholungsverlauf vom Phosphormangel eine supranormale Grundatmung kennzeichnend ist. — Die starke Veränderlichkeit der Atmung erschwert die Beurteilung der Photosyntheseleistung im Schwachlicht. Wenn es zulässig ist, die Werte der Dunkelatmung zur Berechnung der Gesamtphotosynthese heranzuziehen, so sprechen unsere bisherigen Ergebnisse dagegen, daß bei mäßigem Phosphormangel im Bereich niedriger Lichtintensitäten eine Photosynthesehemmung vorliegt. Danach wäre das Phosphat den Faktoren zuzurechnen, welche nur in die Dunkelreaktionen der Photosynthese eingreifen.

Zur Frage der Beteiligung energiereicher Phosphatbindungen an einer Energieübertragung innerhalb des Photosynthesemechanismus liefern unsere Befunde keinen direkten Beitrag. In dieser Beziehung hat nur der sichere Nachweis einer bei Ein- oder Ausschaltung der Photosynthese eintretenden Veränderung in der Bindungsform der Phosphorsäure Beweiskraft. Experimentelle Ergebnisse in dieser Richtung liegen bereits vor (vgl. dazu Rabinowitch, ferner Wassink und Mitarbeiter und neuerdings besonders Kandler). Entzug oder Wiederzufuhr von Phosphaten als Quelle solcher rasch synthetisierbarer Energieüberträger dürften sich im Stoffwechsel ähnlich kurzfristig äußern wie eine Fermentkomplettierung oder Strukturänderung. Bei Annahme einer Spezialwirkung der Phosphate im Sinne der genannten Autoren hätte man das Schema der Abb. 17 sinngemäß zu erweitern.

Für *Chlorella* fand Scott bei der analytischen Untersuchung der mineralischen Zusammensetzung eine enge Kopplung der Kaliumaufnahme an den Eintritt von Phosphat. Es können daher Zweifel an der Spezifität der Phosphormangelsymptome aufkommen. Sie wären danach vielleicht ihrem Wesen nach Kalimangeleffekte oder zumindest von solchen überlagert. Dies könnte insbesondere hinsichtlich der geringfügigen Atmungssteigerung und der Reversibilität der Photosynthesehemmung erwogen werden. Von Kalimangeleffekten mit Sicherheit zu unterscheiden ist jedoch der Verlauf der Chlorophyllbildung in der Anzucht, sowie die Reaktion der Grund- und Glukosezusatzatmung im Zuge des Erholungsvorganges.

Zwischen dem Verhalten der Phosphor- und *Magnesium*mangelzellen besteht im ersten Mangelbeginn insofern eine Ähnlichkeit, als die Photosynthesehemmung im Lichtsättigungsbereich bei weitem nicht so kräftig einsetzt wie im Falle des Kalium- und Manganmangels. Aber auch hier ist die Starklichthemmung von Anfang an beträchtlich

größer als Trockengewichtsabnahme und Chlorophyllschwund. Wie FLEISCHER bei Mg-Mangelsuspensionen von *Chlorella* fanden auch wir bei *Ankistrodesmus* keine Proportionalität zwischen Chlorophyllgehalt und Photosynthese. Die vom Chlorophyll unabhängige Wirkung des Magnesiums auf die Photosynthese hat KENNEDY mit der Lichtblitzmethodik als Hemmung von Dunkelreaktionen näher charakterisiert. Entgegen der (nach unseren Erfahrungen an Mangan-, Kalium- und Phosphormangelalgen naheliegenden) Erwartung ist eine Wiederanregung der Photosynthese im Fall des Mg-Mangels jedoch nicht möglich; die Mangelerscheinungen lassen sich nur ganz allmählich beheben. Eine einfache Wirkung des Magnesiums als Fermentaktivator oder Koferment, wie sie z. B. von Phosphatasen bekannt ist, und bei der Deutung einer Fluoridempfindlichkeit der Photosynthese in Betracht gezogen wurde (SIMONIS), konnten wir somit nicht isolieren. Auf Grund des Fehlens einer kurzfristigen Photosynthesesteigerung bei Mangelzellen dem Magnesium eine unmittelbare Wirkung auf Strukturoberflächen des Photosyntheseapparats abzusprechen, erscheint uns jedoch nicht angängig.

Das zweiwertige Mg-Ion ist nach bisher vorliegenden Erfahrungen (QUAGLIARIELLO für Muskelsaft, BENJAMIN und Mitarbeiter für Serum und Milch, OLSEN für grüne Blattzellen) zum Teil relativ fest (an Proteine) gebunden und beeinflußt dabei in vivo wahrscheinlich durch Brückenbildung zwischen Eiweißmolekülen die Strukturverhältnisse in stärkerem Maße als dies bei den einwertigen Ionen der Fall ist (vgl. z. B. HAUROWITZ, S. 164)[1]. Ein Ionenentzug dürfte daher bei bivalenten Ionen in vivo tiefergreifende Folgen für strukturgebundene Vorgänge haben als bei den univalenten, die vergleichsweise leichter aus ihrer lockeren Bindung gelöst werden, was für das Kaliumion bei Blattzellen zuletzt von OLSEN aufgezeigt worden ist. Im Falle einzelliger Algen kommt hinzu, daß das Calcium als Antagonist einwertiger Ionen offenbar weitgehend ausscheidet (STEGMANN) und daher dessen diesbezügliche Funktion besonders vom Magnesium übernommen werden dürfte. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, daß — wiederum im Gegensatz zu Kalium- und Phosphormangel — auch die gesteigerte Atmung der Magnesiummangelzellen nicht sofort auf Mg-Zusatz anspricht, was gleichfalls eine tiefergehende Veränderung des Reaktionssystems anzeigt.

Dem Phosphor- und Magnesiummangel ist — lediglich mit einer zeitlichen Verschiebung — der relativ steile Abfall des Chlorophyllgehalts gemeinsam. Eine direkte Wirkung auf die Bildung des Chlorophyllmoleküls liegt im Fall des Magnesiums auf der Hand und wird wie im Falle des Phosphors zusätzlich bekräftigt durch den Nachweis ätherlöslicher Chlorophyllvorstufen, die Mg, bzw. P enthalten (SMITH).

Vom *Eisenmangel* ist die Photosynthese im Lichtsättigungsbereich nur wenig stärker betroffen als die Chlorophyllbildung. Infolgedessen

[1] Über komplex gebundes Mg in proteolytischen Fermenten vgl. auch E. L. SMITH in J. B. SUMMER u. K. MYRBÄCK, The Enzymes Bd. I, S. 834ff. New York 1951.

sind hier selbst bei stärkerer Chlorose und Wachstumshemmung noch relativ hohe Photosyntheseleistungen möglich. Auf Zufuhr von Eisen folgt kein kurzfristiger Erholungseffekt des Gaswechsels. Offenbar fehlt dem Eisen der unmittelbare Ioneneinfluß auf den Photosyntheseapparat in dem oben dargelegten Sinne. Es finden sich auch keine Anhaltspunkte für ein spezifisches Eingreifen des Eisens in die Bildung des Chlorophyllmoleküls selbst. Die Eisenchlorose setzt nur langsam ein und zeigt eine *langsam* zunehmende Tendenz. Es erscheint daher wahrscheinlicher, daß die Chlorophyllbildung bei Eisenmangel auf dem indirekten Wege, vielleicht im Zusammenhang mit der Proteinsynthese in Mitleidenschaft gezogen ist. Hierfür spricht die an höheren Pflanzen im Bereich niedrigen Eisengehalts nachgewiesene enge Beziehung zwischen Eisen, Chlorophyll und Eiweiß (Gärtner). Nach Liebich und Jacobson ist der Symplex von Chlorophyll und Eiweiß auch nach der Präparation noch eisenhaltig. Liebichs Analysen von Spinatchloroplasten haben wahrscheinlich gemacht, daß ein Teil des Plastideneisens als „konstitutionelle" Fraktion an Protein gebunden ist, vielleicht durch Vermittlung von Phosphorsäure. Offenbar existieren im Chloroplasten Verbindungen, welche den einfachen, d. h. nichthäminhaltigen Eisenproteiden ähneln, die im Tierkörper nachgewiesen worden sind, wie Ferritin (Laufberger, dies allerdings wohl mehr ein Eisenspeicherprodukt) und Siderophilin (Fiala und Burk). Nach Bennett ist die Chlorophyllbildung an eine „aktive" Eisenfraktion gebunden und diese wiederum steht in engem Zusammenhang mit einer Proteinkomponente des Chloroplasten.

Schon Emerson hat festgestellt, daß die Photosynthese von *Chlorella* bei Eisenmangel gleichlaufend mit dem Chlorophyllgehalt vermindert ist. Fleischer hat dies bestätigt und seinerseits dieselbe Konstanz der „Assimilationszahl" auch bei Stickstoffmangel beobachtet. Abweichungen von der Proportionalität zwischen Photosynthese und Chlorophyllgehalt, wie sie bei unseren Eisenmangelanzuchten immerhin vorliegen, haben beide Forscher durch Zusatz von Glukose zum Nährmedium behoben (Verhinderung einer Baustoffverknappung und ihrer weiteren Folgen, vgl. Abb. 17). Den seinerzeit von Emerson gezogenen Schluß, das Chlorophyll sei im kontinuierlichen Starklicht der tatsächlich photosynthesebegrenzende Faktor und daher neben seiner Funktion im photochemischen Teilprozeß auch in den Mechanismus der Dunkelreaktionen einbezogen, halten wir nicht für zwingend. Unter den Bedingungen des Eisenmangels — und vielleicht allgemein in den Fällen, wo eine Beziehung zwischen Chlorophyll und Photosynthese im Starklicht hervorzutreten scheint — begrenzt möglicherweise der ins Minimum geratene mineralische Faktor die Eiweißsynthese im Plastiden und bewirkt, daß die für den normalen Ablauf der Dunkelreaktionen wesentlichen Struktur-

proteine oder Apofermente in zunehmendem Maße ausfallen und *nebenher* auch das Chlorophyll als äußerer Indikator dieser allmählich tiefergreifenden Störung mitbetroffen wird, ohne selbst als Minimumfaktor wirksam zu werden. Folgt man den Gedankengängen von GABRIELSEN, der auf Grund von vergleichenden Pigmentbestimmungen und Photosynthesemessungen an Laubblättern das Chlorophyll als „Schwachlichtfaktor" bezeichnet, so muß man es überhaupt für abwegig halten, nach einer Beziehung zwischen dem Chlorophyllgehalt und der Starklichtphotosynthese zu suchen, d. h. der „Assimilationszahl" von WILLSTÄTTER und STOLL, die sich ja in erster Linie auf Starklichtbedingungen bezieht, einen biochemischen Sinn zuzuerkennen. Unsere Befunde zeigen erneut, daß unter den Bedingungen des Mineralsalzmangels (aber auch bei normalernährten Algen) unter Umständen außerordentlich starke Änderungen in der „Assimilationszahl" vorkommen, die man zudem im Erholungsexperiment zum Teil kurzfristig zurückschalten kann. Der Auffassung von GABRIELSEN, welche eine Anwendung des Prinzips der begrenzenden Faktoren darstellt, vermögen wir uns dennoch nicht bedenkenlos anzuschließen. Ihre Grundvoraussetzung, daß das Chlorophyll tatsächlich nur im photochemischen Teilmechanismus als Sensibilisator wirksam sei, ist nach dem derzeitigen Forschungsstande nicht völlig gesichert. Es muß außerdem berücksichtigt werden, daß im Bereich niedrigster Chlorophyllgehalte die vom Chlorophyll eingebrachte Energie nicht mehr ausreicht, um die Dunkelreaktionen auch im Starklicht ausreichend mit primären Photoprodukten zu versorgen; es dehnen sich dann die Kennzeichen der photochemischen Reaktion auf den Bereich höherer Lichtintensitäten aus (Verflachung der Lichtassimilationskurve). Dies geht aus einigen Messungen von GABRIELSEN selbst, sowie neuerdings von BLAAUW-JANSEN und Mitarbeitern (ergrünende Keimlinge) deutlich hervor. Zur genaueren Beurteilung dieser Verhältnisse im Bereich des Mineralsalzmangels haben wir die Aufnahme von Lichtintensitätskurven der Photosynthese vorgesehen. Allgemein ist zu erwarten, daß die Hemmung der Photosynthese der Mangelalgen im Schwachlicht relativ geringer ist als im Starklicht. Man erkennt dies bereits beim Vergleich der Wachstumshemmung im Schwachlicht unsrer Versuchsanlage und der Photosynthesehemmung im Bereich der Lichtsättigung. Die letztere ist stets größer. Am auffälligsten ausgeprägt ist diese Differenz bei Kalium- und Manganmangel, am schwächsten bei Eisenmangel.

Von verschiedenen Seiten ist angeregt worden, den Chlorophyllgehalt natürlicher Gewässer als ein Maß für die Planktonproduktion einzusetzen [GESSNER (2), dort ausführliche Literaturangaben]. Daß ein solches Verfahren strengeren physiologischen Forderungen nicht gerecht wird, liegt auf der Hand. Es setzt optimale Ernährungsbedingungen am Standort voraus. Diese sind jedoch nach den Erfahrungen der Hydrobiologie oft nicht gegeben. Es besteht vielmehr häufig

Phosphor- oder Stickstoffmangel. Im Starklicht wird aber gerade bei diesen Mangelzuständen die Photosynthese stärker betroffen als der Chlorophyllgehalt. Aber auch bei günstigsten Ernährungsverhältnissen muß mit adaptativen Veränderungen von Pigmentgehalt und Photosyntheseleistung gerechnet werden, welche sich gegenseitig durchaus nicht immer zu entsprechen brauchen. Daß das vorgeschlagene Verfahren für Belange der Limnologie und für grobe ökologische Bilanzmessungen von Wert sein kann, soll mit dieser Bemerkung nicht bestritten werden.

Welche Ursache die persistierende Atmungssteigerung hat, welche bei Eisen- und Magnesiummangel auftritt, läßt sich vorerst nicht mit Sicherheit angeben. Das Fehlen des Erholungseffektes ist bei diesen beiden Ionen der Atmung *und* Photosynthese gemeinsam. Von der Frage der Reversibilität der Stoffwechseleffekte abgesehen ist es wohl kein Zufall, daß Photosynthese*hemmung* und Atmungs*steigerung* unter verschiedenartigen Mangelbedingungen (bei K-, Mg-, Fe-Mangel, vielleicht auch bei P-Mangel, jedoch nicht beim Fehlen von Mn und Stickstoff) koordiniert sind. Das gegensinnige Reagieren des photosynthetischen und respiratorischen Systems ist bekanntlich auch unter anderen Einflüssen nachweisbar. So wirkt Blausäure und Phenylurethan in bestimmten Dosen photosynthesehemmend und atmungssteigernd (Warburg und Negelein); dasselbe gilt auch für Bedingungen, unter denen sich an plasmatischen Strukturen Hydratationsänderungen abspielen dürften (Kaltwasser, Stocker, Montfort und Hahn). Es erscheint uns jedoch verfrüht, über die Feststellung einer formalen Ähnlichkeit der Effekte hinaus eine diesen Fällen gemeinsame oder ähnliche Verursachung im Bereiche der beide Stoffwechselvorgänge regulierenden Strukturfaktoren zu erörtern.

Die vorliegende Untersuchung wurde in den Jahren 1947—1951 ausgeführt, zum Teil mit Unterstützung durch die Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft, die Kalivertriebsstelle G. m. b. H. Hannover (Prof. Dr. F. Alten) und den Universitätsbund e. V. Marburg. Wir sprechen diesen Stellen hierfür unseren besonderen Dank aus.

Zusammenfassung.

1. Wachstumsverlauf, Trockengewichtsproduktion und Chlorophyllbildung der einzelligen Grünalge *Ankistrodesmus falcatus* wurden unter Bedingungen des Mineralsalzmangels bei Abstufung der Nährsalzgabe und genau kontrollierter Aufzucht vermessen. Die untersuchten mineralischen Faktoren waren Kalium, Phosphor, Magnesium, Eisen und Mangan.

2. Den Wachstumsmessungen wurden jeweils Bestimmungen des Photosynthese- und Atmungsgaswechsels zugeordnet.

3. Besonderer Wert wurde auf die Bestimmung der Photosynthese- und Atmungsquotienten gelegt, da dieselben gaswechselverändernde Nebenreaktionen und deren Beeinflussung zu erkennen gestatten (z. B. Nitratassimilation, Fettumsatz, Photooxydationsvorgänge).

4. Zwischen den verschiedenen Ionenwirkungen bestehen charakteristische Unterschiede. Sie betreffen besonders den Eintritt oder das

Ausbleiben einer kurzfristigen Stoffwechselrestitution bei Aufhebung der Mangelbedingungen.

5. Eine tabellarische Zusammenfassung der wichtigsten Einzelbefunde ist auf S. 242 gegeben (Tabelle 19).

6. Der spezifische Einfluß des Spurenelements Mangan auf die Photosynthese im Stark- und Schwachlicht wurde sichergestellt.

7. Auf Grund der bisherigen Ergebnisse werden die Möglichkeiten direkter oder indirekter Ionenwirkungen auf Photosyntheseapparat und Atmungsmechanismus erörtert.

Literatur.

ALBERTS-DIETERT, F.: Die Wirkung von Eisen und Mangan auf die Stickstoffassimilation von *Chlorella*. Planta (Berl.) **32**, 88 (1941). — ARENS, K.: Physiologisch polarisierter Massenaustausch und Photosynthese bei submersen Wasserpflanzen. I. Planta (Berl.) **20**, 621 (1933). — ARENZ, B.: Die Rolle des Kaliums bei der Ernährung der Pflanze mit Ammonstickstoff. Z. Pflanzenernährg, Düng. u. Bodenkde **28**, 129 (1942). — ARNON, D. I.: (1) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxydase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology **24**, 1 (1949). — (2) Vortragsbericht Stockholm 1950. — ARNON, D. I., and F. R. WHATLEY: Is chloride a coenzyme of photosynthesis? Science (Lancaster, Pa.) **110**, 554 (1949). — BENJAMIN, H. R., A. F. HESS and J. GROSS: The forms of magnesium in serum and milk. J. of biol. Chem. **103**, 383 (1933). — BENNETT, J. P.: Iron in leaves. Soil Sci. **60**, 91 (1945). — BLAAUW-JANSEN, G., J. G. KOMEN and J. B. THOMAS: On the relation between the formation of assimilatory pigments and the rate of photosynthesis in etiolated oat seedings. Biochim. Biophys. Acta **5**, 179 (1950). — BOYER, P. D., H. A. LARDY and P. H. PHILLIPS: Further studies on the role of potassium and other ions in the phosphorylation of the adenylic system. J. of biol. Chem. **149**, 529 (1943). — BUKATSCH, F.: Über den Einfluß verschiedener mineralischer Ernährung auf den Blattpigmentgehalt und die Photosynthese junger Getreidepflanzen. Jb. Bot. **90**, 293 (1942). — CALVIN, M.: The path of carbon in photosynthesis. VI. J. chem. Educat. **26**, 639 (1949). — EMERSON, R.: The effect of certain respiratory inhibitors on the respiration of *Chlorella*. J. gen. Physiol. **10**, 469 (1927). — EMERSON, R., and L. GREEN: Effect of hydrogen-ion concentration on *Chlorella* photosynthesis. Plant Physiology. **13**, 157 (1938). — EMERSON, R., and C. M. LEWIS: (1) Factors influencing the efficiency of photosynthesis. Amer. J. Bot. **26**, 808 (1939). — (2) The quantum efficiency of photosynthesis. Carnegie Inst. Yb. **39**, 154 (1940). — FIALA, S., and D. BURK: On the mode of iron binding by Siderophilin etc. Arch. of Biochem. **20**, 172 (1949). — FLEISCHER, W. E.: The relation between chlorophyll content and rate of photosynthesis. J. gen. Physiol. **18**, 573 (1935). — FRIEDERICHSEN, I.: Über die Funktionen des Mangans im Stoffwechsel der höheren Pflanze. Planta (Berl.) **34**, 67 (1944). — GABRIELSEN, E. K.: Effects of different chlorophyll concentrations on photosynthesis in foliage leaves. Physiologia Plantarum **1**, 5 (1948). — GAERTNER, H.: Untersuchungen über den Stickstoff-Stoffwechsel bei Ammon- und Nitraternährung in seiner Beziehung zum Eisen. Bodenkde u. Pflanzenernährg **5** (50), 234 (1937). — GAFFRON, H.: The effect of specific poisons upon the photoreduction with hydrogen in green algae. J. gen. Physiol. **26**, 195 (1943). — GERRETSEN, F. C.: Manganese in relation to photosynthesis. (1) Plant a. Soil **1**, 346 (1949); (2) Plant a. Soil **2**, 159 (1950). — GESSNER, F.: (1) Die assimilatorische Leistung des Phytoplanktons, bezogen auf seinen Chlorophyllgehalt. Z. Bot.

38, 414 (1943). — (2) Der Chlorophyllgehalt im See und seine photosynthetische Valenz als geophysikalisches Problem. Schweiz. Z. Hydrol. **11**, 378 (1949). — GREGORY, F. G., and F. J. RICHARDS: Physiological studies in plant nutrition. I. Ann. of Bot. **43**, 119 (1929). — GRIER, R. S., M. B. HOOD and M. B. HOAGLAND: Observations on the effects of beryllium on alkaline phosphatase. J. of biol. Chem. **180**, 289 (1949). — HAUROWITZ, F.: Chemistry and biology of proteins. New York 1950. — HILLE, J. C. VAN: The quantitative relation between rate of photosynthesis and chlorophyll content in *Chlorella pyrenoidosa*. Rec. Trav. bot. néerl. **35**, 680 (1938). — HOFMANN, E., u. H. SCHECK: Über den Einfluß des Kalium-Ions auf Bildung und Aktivität der Fermente bei Hefen und Schimmelpilzen. Biochem. Z. **321**, 98 (1950). — HONERT, T. VAN DEN: Carbon dioxide assimilation and limiting factors. Rec. Trav. bot. néerl. **27**, 149 (1930). — JACOBSON, L.: Iron in the leaves and chloroplasts of some plants in relation to their chlorophyll content. Plant Physiology **20**, 233 (1945). — KALTWASSER, J.: Assimilation und Atmung Submerser als Ausdruck ihrer Entquellungsresistenz. Protoplasma (Berl.) **29**, 498 (1938). — KANDLER, O.: Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese I. Z. Naturforschg **5b**, 423 (1950). — KENNEDY jr., S. R.: The influence of magnesium deficiency, chlorophyll concentration and heat treatments on the rate of photosynthesis of *Chlorella*. Amer. J. Bot. **27**, 68 (1940). — KETCHUM, B. H.: (1) The development and restoration of deficiencies in the phosphorus and nitrogen composition of unicellular plants. J. cellul. comp. Physiol. **13**, 373 (1939). — (2) The absorption of phosphate and nitrate by illuminated cultures of *Nitzschia closterium*. Amer. J. Bot. **26**, 399 (1939). — KLEMPERER, F. W., J. M. MILLER and C. J. HILL: The inhibition of alkaline phosphatase by *Beryllium*. J. of biol. Chem. **180**, 281 (1949). — KYLIN, A.: The nitrogen sources and the influence of manganese on the nitrogen assimilation of *Ulva lactuca*. Kgl. fysiograf. Sällskap. Lund Förh. **15**, 27 (1945). — LARDY, H. A., and J. A. ZIEGLER: Enzymatic synthesis of phosphopyruvate from pyruvate. J. of biol. Chem. **159**, 343 (1945). — LAUFBERGER, V.: Sur la cristallisation de la ferritine. Bull. Soc. Chim. biol. **19**, 1575 (1938). — LIEBICH, H.: Quantitativ-chemische Untersuchungen über das Eisen in den Chloroplasten und übrigen Zellbestandteilen von *Spinacia oleracea*. Z. Bot. **37**, 129 (1941). — MENKE, W.: Untersuchungen über das Protoplasma grüner Pflanzenzellen. III. Z. physiol. Chem. **263**, 104 (1940). — MONTFORT, C., u. H. HAHN: Atmung und Assimilation als dynamische Kennzeichen abgestufter Trockenresistenz bei Farnen und höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **38**, 503 (1950). — MULDER, E. G.: Mineral nutrition of plants. Ann. Rev. Plant Physiol. **1**, 1 (1950). — MUNTZ, J. A.: Role of potassium and ammonium ions in alcoholic fermentation. J. of biol. Chem. **171**, 653 (1947). — MYERS, J.: (1) Culture conditions and the development of photosynthetic mechanism. IV. Influence of light intensity on photosynthetic characteristics of *Chlorella*. J. gen. Physiol. **29**, 429 (1946). — (2) Oxidative Assimilation in relation to photosynthesis in *Chlorella*. J. gen. Physiol. **30**, 217 (1947). — (3) The pattern of photosynthesis in *Chlorella*. In: Photosynthesis in Plants, S. 349—364. Ed. J. Franck a. W. E. Loomis. Iowa 1949. — MYERS, J., and G. O. BURR: Studies on photosynthesis. J. gen. Physiol. **24**, 45 (1940). — NANCE, J. F.: The role of oxygen in nitrate assimilation by wheat roots. Amer. J. Bot. **35**, 602 (1948). — NEEB, O.: Zellphysiologie, Ernährung und Stoffwechsel von *Hydrodictyon*. Im Druck. — NOACK, K., u. A. PIRSON: Die Wirkung von Eisen und Mangan auf die Stickstoffassimilation von *Chlorella*. Ber. deutsch. bot. Ges. **57**, 442 (1939). — OLSEN, C.: Adsorptively bound potassium in beech leaf cells. Physiologia Plantarum **1**, 136 (1948). — PIRSON, A.: (1) Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Fontinalis* und *Chlorella*. Z. Bot. **31**, 193 (1937). — (2) Über die Wirkung von

Alkali-Ionen auf Wachstum und Stoffwechsel von *Chlorella*. Planta (Berl.) **29**, 231 (1939). — PIRSON, A., u. F. SEIDEL: Zell- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Lemna minor L.* unter besonderer Berücksichtigung von Kalium- und Kalziummangel. Planta (Berl.) **38**, 431 (1950). — PIRSON, A., u. G. WILHELMI: Photosynthesegaswechsel und Mineralsalzernährung. Z. Naturforschg **5b**, 211 (1950). — PORTSMOUTH, G. B.: The effect of manganese on carbon assimilation in the potato plant as determined by a modified leaf-half method. Ann. Bot. N. s. **13**, 113 (1949). — PRATT, R.: Studies on *Chlorella vulgaris*. V. Some properties of the growth inhibitor formed by *Chlorella* cells. Amer. J. Bot. **29**, 142 (1942). — QUAGLIARIELLO, G.: Na, K, Ca e Mg nel succo muscolare e nel suo ultrafiltrato. Atti Acad. naz. Lincei **9**, 1029 (1929). — RABINOWITCH, E. I.: Photosynthesis and related processes, Bd. I. New York 1945. — ROBERTS, R. B., and I. Z. ROBERTS: Potassium metabolism in Escherichia coli. III. J. cellul. a. comp. Physiol. **36**, 15 (1950). — RODHE, W.: Environmental requirements of fresh-water plankton algae. Symbolae bot. Upsalienses **10**, 1 (1948). — RUSSELL, J.: Vortrag 7. Kalitag Berlin. Kali und Landwirtschaft, S. 75. Berlin 1928. — SARGENT, M. C.: Effect of light intensity on the development of the photosynthetic mechanism. Plant Physiology **15**, 275 (1940). — SCHARRER, K., u. W. SCHROPP: Über die Wirkung des Kaliumions bei mangelnder Lichtversorgung. Z. Pflanzenernährg, Düng. u. Bodenkde A **35**, 185 (1934). — SCHULZE, K. L.: Beiträge zur Physiologie und Technologie der Fettbildung bei Mikroorganismen. Arch. Mikrobiol. **15**, 315 (1950). — SCOTT, G. T.: The mineral composition of phosphate deficient cells of *Chlorella pyrenoidosa* during the restoration of phosphate. J. cellul. a. comp. Physiol. **26**, 35 (1945). — SIMONIS, W.: Beobachtungen zur Hemmung der Photosynthese durch Natriumfluorid bei verschiedener Lichtintensität. Z. Naturforschg **4b**, 109 (1949). — SMITH, J. H. C.: Organic compounds of magnesium and phosphorus in relation to chlorophyll formation. J. Amer. chem. Soc. **69**, 1492 (1947). — SPOEHR, H. A., and H. W. MILNER: The chemical composition of *Chlorella*; effect of environmental conditions. Plant Physiology **24**, 120 (1949). — SPOEHR, H. A., J. H. C. SMITH, H. H. STRAIN, H. W. MILNER and G. J. HARDIN: Fatty acid antibacterials from plants. Carnegie Inst. Washington Publ. No 586, 1949. — STEGMANN, G.: Die Bedeutung der Spurenelemente für *Chlorella*. Z. Bot. **35**, 385 (1940). — STOCKER, O.: Beiträge zu einer Theorie der Dürreresistenz. Planta (Berl.) **35**, 445 (1948). — TAYLOR, F. J.: Oxidative assimilation of glucose by *Scenedesmus quadricauda*. J. of exper. Bot. **1**, 301 (1950). — UMBREIT, W. W., R. H. BURRIS and J. F. STAUFFER: Manometric technics and related methods for the study of tissue metabolism. Minneapolis: Burgess Publ. Co. 1945. — WARBURG, O.: Assimilatory quotient and photochemical yield. Amer. J. Bot. **35**, 194 (1948). — WARBURG, O., and D. BURK: The maximum efficiency in photosynthesis. Arch. of Biochem. **24**, 410 (1950). — WARBURG, O., u. W. LÜTTGENS: Zit. nach O. WARBURG, Schwermetalle, S. 170—184. Berlin 1948. — WARBURG, O., u. W. NEGELEIN: (1) Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäurezersetzung in lebenden Zellen. Biochem. Z. **100**, 230 (1919). — (2) Versuche über die Assimilation der Kohlensäure. Biochem. Z. **166**, 386 (1925). — WARBURG, O., and V. SCHOCKEN: A manometric actinometer for the visible spectrum. Arch. of Biochem. **21**, 365 (1949). — WASSINK, E. C., J. E. TJIA and J. F. G. M. WINTERMANS: Phosphate exchange in purple sulphur bacteria in connection with photosynthesis. Proc., Kon. nederl. Akad. Wetensch. **52**, 412 (1949). — WELLER, S., and J. FRANCK: Photosynthesis in flashing light. J. physic. Chem. **45**, 1359 (1941). — WHITE, H. L.: The interaction of factors in the growth of *Lemna* XIV. Ann. of Bot., N. s. **3**, 619 (1939). — WINOKUR, M.: Aging effects in *Chlorella* cultures. Amer. J. Bot. **36**, 287 (1949).

Planta, Bd. 40, S. 254—264 (1952).

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung Heidelberg.

NACHWEIS VON ZWEI WUCHSSTOFFEN IN SAMEN UND WURZELN DER KRESSE (*LEPIDIUM SATIVUM*).

Von

FRANZ MOEWUS, LISELOTTE MOEWUS und HILDEGARD SKWARRA.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. August 1951.)

I. Einleitung.

Pflanzliches Wachstum kann nur dann stattfinden, wenn in den betreffenden Organen eine bestimmte Wuchsstoffmenge vorhanden ist. Dieser Wuchsstoffbedarf ist für jedes Organ verschieden groß. Sprosse benötigen am meisten, Wurzeln am wenigsten. Das Wurzelwachstum wird durch Wuchsstoffdosen, die das Sproßwachstum fördern, gehemmt. Umgekehrt haben diejenigen Wuchsstoffmengen, die das Wurzelwachstum fördern, keinen nachweisbaren Einfluß auf das Sproßwachstum. In Wuchsstofftesten, bei denen mit oberirdischen Organen gearbeitet wird, sind deshalb derartige kleine Wuchsstoffmengen nicht bestimmbar. Infolge ihrer Empfindlichkeit gegen Wuchsstoffe sollte die Wurzel ein ideales Testobjekt zum Nachweis kleinster Wuchsstoffmengen sein. Außer dem Wuchsstoff müssen ihr natürlich alle übrigen erforderlichen Nährstoffe zur Verfügung stehen. Arbeitet man mit isolierten Wurzeln, so muß eine kompliziert zusammengesetzte Nährlösung geboten werden. Man kann aber auch die Wurzeln in dem Stadium als Testobjekt verwenden, in dem ihr Wachstum noch völlig aus den Reserven des Samens zustande kommt. Die jungen Keimlinge haben noch keine Blätter und werden im Dunkeln gehalten. Nimmt man an, daß Wuchsstoff- und Nährstoffversorgung für die Wurzel optimal ist, so wird durch zusätzliche Wuchsstoffgabe nur Hemmung erhalten, so wie Überdosierung bei Sproßorganen zur Hemmung führt. Förderung ist nur möglich, wenn die Wuchsstoffmenge unterdosiert ist, obwohl die Nährstoffmenge ein schnelleres Wachstum erlaubte. Bei der von uns verwendeten Kressewurzel zeigt sich optimales Wachstum darin, daß die Wachstumsgeschwindigkeit (gemessen in mm/Std) konstant ist. Nachdem die Keimwurzel die Samenschale durchbrochen hat, steigert sich ihre Wachstumsgeschwindigkeit allmählich, bis dieser zeitkonstante Zuwachswert erreicht wird. Er wird solange aufrecht erhalten, als die Reservequellen des Samens es erlauben. Nur in der 1. Periode des nichtoptimalen Wachstums ist eine Förderung durch Wuchsstoffzusätze möglich. Nach

unseren Erfahrungen ist die Dauer der wuchsstoffempfindlichen Periode von der Beschaffenheit des Saatgutes abhängig.

Da der Same die einzige Wuchsstoffquelle der Testwurzeln ist, war zu vermuten, daß ihre unterschiedliche Reaktionsfähigkeit durch verschiedenen Wuchsstoffgehalt des Saatgutes bedingt ist. Es wurden deshalb Wuchsstoffbestimmungen an Kressesamen 3 verschiedener Jahrgänge der gleichen Herkunft (H. Hild, Marbach/Neckar) vorgenommen. Ließe sich eine Beziehung zwischen Reaktionsfähigkeit der Wurzel und Wuchsstoffgehalt des Samens finden, so könnte sich dieser wechselnde Faktor im Test ausgleichen lassen, wenn der Wuchsstoff in der jeweils empfindlichen Periode geboten wird.

II. Wuchsstoffbestimmungen an Samen und Wurzeln.

a) Kresse Jahrgang 1944.

Versuch. Von 100 ausgelesenen Samen wurden vorsichtig die Samenschalen entfernt. Die Embryonen hatten ein Gewicht von 35 mg. Sie wurden fein zerrieben und mit 10 cm³ destilliertem Wasser bei 4° 24 Std lang extrahiert. Dann wurde durch Filtrieren 6 cm³ Filtrat erhalten. Von dieser Lösung 1 wurden 8 Verdünnungsstufen bis 1 : 10^8 hergestellt. Die Wirksamkeit dieser 9 Lösungen wurde im Kressewurzeltest bestimmt (Abb. 1).

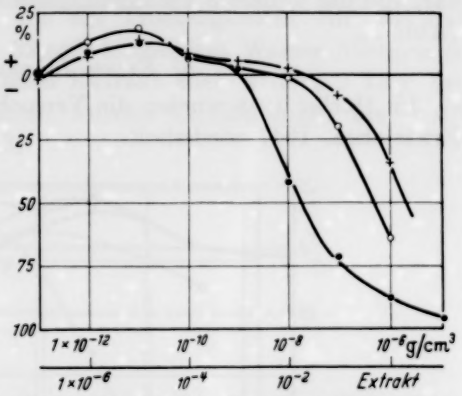


Abb. 1. Kresse 1944 (Versuche Sommer 1947). Die Wirkungskurve eines Samenextraktes (o—o) und eines Wurzelextraktes (+——+) in Beziehung gesetzt zur Heteroauxinstandardkurve, aufgenommen mit Kresse 1944 (●—●). Angegeben sind die prozentualen Wachstumshemmungen (—) bzw. Förderungen (+) gegenüber der Wasserkontrolle (= 0-Linie). Die Angaben in g/cm³ beziehen sich auf die Heteroauxinstandardkurve. Die darunter stehenden Werte stellen die entsprechenden Verdünnungsstufen der Extrakte dar.

Die Förderungsbereiche des Heteroauxins von 10^{-13} bis 10^{-9} g/cm³ und der Extraktverdünnungen von 10^{-7} bis 10^{-3} stimmen gut überein, d. h. die Grenzkonzentration des Extrakts, bei der die Förderung soeben einsetzt, entspricht der Wirksamkeit einer Lösung, die 10^{-13} g/cm³ (= 10^{-7} γ/cm³) Heteroauxin enthält. Dagegen liegt im Hemmungsbereich die Extraktkurve über der Standardkurve. Nach unseren Untersuchungen über den Wuchsstoffgehalt pflanzlicher Extrakte war zu erwarten, daß die Extraktkurve im Hemmungsbereich unterhalb der Standardkurve verlaufen müßte (vgl. Abb. 4), was auf den Gehalt an wachstumshemmenden Stoffen beruht. Es lag die Vermutung nahe, daß im Kressesamen ein anderes wachstumsregulierendes System vorliegt als bei den bisher untersuchten Pflanzen.

Auch bei der Austestung von Extrakten, die aus Kressewurzeln bereitet wurden, wurde wieder eine Kurve erhalten, die im Förderungsbereich Übereinstimmung, im Hemmungsbereich noch stärkere Abweichung von der Heteroauxinstandardkurve zeigte.

Versuch. 100 abgeschnittene Kressewurzeln von 5—6 mm Länge wurden zerrieben. Ihr Gewicht betrug 100 mg. Sie wurden mit 10 cm^3 Wasser versetzt und 24 Std bei 4° extrahiert. Das Filtrat stellte Lösung 1 dar, von der weitere 8 Verdünnungsstufen bereitet und getestet wurden (Abb. 1).

b) Kresse Jahrgang 1947.

Im Herbst 1948 wurden die Versuche mit Samen und Wurzeln des Erntejahres 1947 wiederholt.

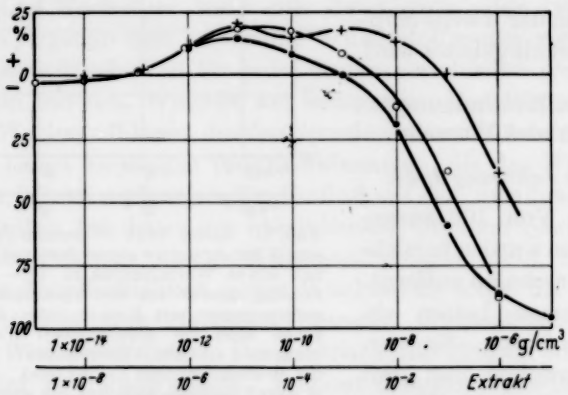


Abb. 2. Kresse 1947 (Versuche Herbst 1948). Die Wirkungskurve eines Samenextraktes (o—o) und eines Wurzelextraktes (+ — +) in Beziehung gesetzt zur Heteroauxinstandardkurve, aufgenommen mit Kresse 1947 (● — ●).

Versuch. 250 Embryonen (ohne Samenschale), die ein Trockengewicht von 210 mg hatten, wurden zerrieben. Der Extrakt wurde durch Übergießen mit 20 cm^3 kochendem Wasser hergestellt und 24 Std bei 4° aufbewahrt. Das Filtrat (= Lösung 1) wurde bis $1:10^9$ verdünnt und getestet (Abb. 2).

Die Grenzkonzentration des Extrakts ($1:10^7$) entspricht der Wirksamkeit von 10^{-13} g/cm^3 Heteroauxin. Bei der folgenden Konzentration stimmen beide Förderungswerte überein. Der Förderungsbereich der Extraktkurve ist wieder größer als derjenige der Standardkurve. Im Hemmungsbereich sind die Unterschiede weniger ausgeprägt als bei dem Versuch mit 1944er Samen.

Betrachtet man aber den Verlauf der Wurzelextraktkurve, so fällt der äußerst breite Förderungsbereich und die Abweichung im Hemmungsbereich auf.

Versuch. 100 abgeschnittene Wurzeln (22 mg) von 1—4 mm Länge wurden zerrieben, mit 20 cm³ kochendem Wasser übergossen und 24 Std bei 4° extrahiert. Das Filtrat (= Lösung 1) wurde bis 1 : 10^9 verdünnt und getestet (Abb. 2).

c) Kresse Jahrgang 1950.

Neuerdings wurden mit Saatgut 1950 nochmals Samenextrakte geprüft.

Versuch. 250 Embryonen, die ein Trockengewicht von 335 mg hatten, wurden zerrieben, mit 32 cm³ kochendem Wasser übergossen und 1 Tag bei 4° extrahiert. Dieser Extrakt blieb weitere 2 Tage bei —8° stehen. Nach dem Filtrieren wurden Verdünnungen bis 1 : 10^8 hergestellt und getestet (Abb. 3).

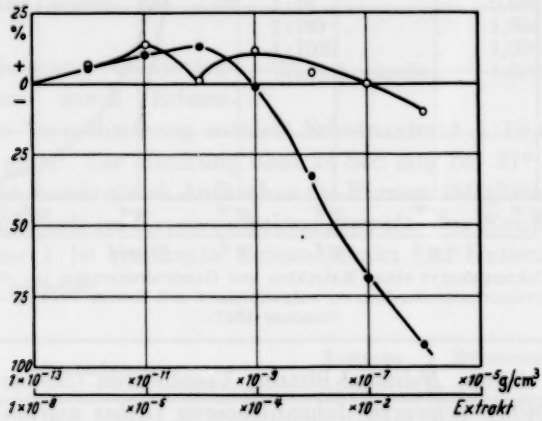


Abb. 3. Kresse 1950 (Versuche Sommer 1951). Die Wirkungskurve eines Samenextraktes (o—o) in Beziehung gesetzt zur Heteroauxinstandardkurve, aufgenommen mit Kresse 1950 (●—●).

Die Extraktkurve zeigt 2 deutlich getrennte Förderungsbereiche. Handelt es sich um 2 verschiedene Wuchsstoffe, dann würde die Grenzkonzentration des wirksameren bei der Extraktverdünnung 1 : 10^8 liegen. Das entspricht einer Heteroauxinmenge von 10^{-13} g/cm³.

Aus den Extraktversuchen mit Kresse verschiedener Jahrgänge kann geschlossen werden, daß außer dem sonst in pflanzlichen Extrakten nachweisbaren Heteroauxin ein weiterer wachstumsfördernder Stoff enthalten sein dürfte. Zum Vergleich ist ein Versuch dargestellt, bei dem der Wuchsstoffgehalt von Gersten-Karyopsen bestimmt wurde.

Versuch. 120 Karyopsen von milchreifer Sommergerste (Monachia) wurden entspelzt (Frischgewicht 1200 mg), zerrieben und mit 10 cm³ destilliertem Wasser bei 27° 6 Std lang extrahiert und dann filtriert.

Das Filtrat (Lösung 1) wurde bis $1:10^8$ verdünnt und mit Saatgut 1944 getestet (Abb. 4).

Im Förderungsbereich stimmen Extraktkurve und Heteroauxinstandardkurve völlig überein. Der unverdünnte Extrakt hemmt um 30% stärker als eine Heteroauxinlösung von 10^{-8} g/cm³. Diese Abweichung kommt in diesem Fall durch einen Hemmstoff zustande. Ähnliche Abweichungen sind bereits an anderer Stelle bei der Untersuchung verschiedener pflanzlicher Extrakte beschrieben worden: Koleoptil-

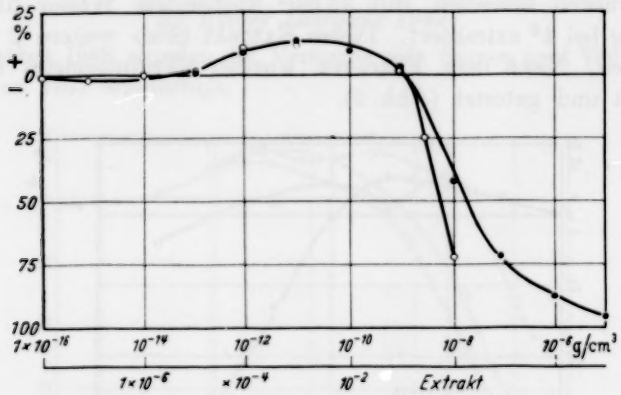


Abb. 4. Die Wirkungskurve eines Extraktes aus Gerstenkaryopsen (o—o) in Beziehung gesetzt zur Heteroauxinstandardkurve, aufgenommen mit Kresse 1944 (●—●). Versuche Sommer 1947.

spitzen von *Avena*, *Melitotus*-Blätter, Vogelbeeren (*Sorbus aucuparia*) (Moewus 1949a), schwarze Johannisbeeren (*Ribes nigrum*), Kirschen (Moewus 1949b), Kartoffelknollen (Moewus 1948).

Bevor an Hand der mitgeteilten Versuchsergebnisse quantitative Wuchsstoffbestimmungen vorgenommen werden können, mußte festgestellt werden, ob einer der beiden Wuchsstoffe — und welcher von beiden — mit Heteroauxin identisch ist.

III. Nachweis von 2 Wuchsstoffen in Extrakten aus Kressewurzeln.

Es ist bekannt, daß Heteroauxin durch ein Fermentsystem zerstörbar ist, welches in Erbsenkeimlingen vorkommt (Tang und Bonner 1947). Durch Einwirkung von Erbsenextrakt auf Wurzelextrakt sollte in letzterem das darin vermutete Heteroauxin inaktiviert werden. Bei Austestung der fermentbehandelten Wurzelextrakte sollte die 2gipflige Wirkungskurve jetzt nur noch 1gipfelig sein.

Versuche. 1. Bereitung des Erbsenextraktes. Von der Erbsensorte "First and Best" wurden 20 Sprosse verwendet, die in 7 Tagen bei 27° im

Dunkeln herangezogen worden waren. Sie wurden zerrieben und über Nacht bei —8° aufbewahrt. Dann wurden 20 cm³ Wasser zugesetzt und filtriert. Der Extrakt verblieb 24 Std lang bei 27° im Dunkeln, wobei das heteroauxinzerstörende Ferment seine Wirkung entfalten konnte. Folgende Verdünnungen dieses Erbsenextraktes wurden im Kressewurzeltest geprüft.

Erbsenextrakt, der 24 Std lang bei 27° im Dunkeln aufbewahrt wird, entfaltet demnach keine Wuchsstoffwirkung mehr. Für die Inaktivierungsversuche wurde die Verdünnungsstufe 1:10 verwendet, da diese keine Hemmungswirkung mehr besitzt. Der auf oben beschriebene Weise hergestellte Erbsenextrakt wurde bei —8° aufbewahrt.

Extrakt	Zuwachs mm/h	Hemmung %
Unverdünnt. . .	0,696	—30,54
1:1	0,996	— 0,60
1:10	0,998	— 0,40
1:100	1,004	+ 0,19
1:1000	1,000	— 0,20
Wasserkontrolle .	1,002	

2. Inaktivierung von Heteroauxinlösungen durch Erbsenextrakt. Die Versuchslösung enthielt Erbsenextrakt 1:10 und Heteroauxin $1:10^8$ g/cm³. Die Mischung blieb 24 Std lang bei 27° im Dunkeln stehen. Dann wurde durch Aufkochen die Fermenttätigkeit abgestoppt. Diese Lösung wurde im Kressewurzeltest geprüft. Zur Kontrolle wurden außerdem der 1:10 verdünnte Erbsenextrakt und Heteroauxinlösung $1:10^8$ g/cm³ getestet.

Versuchslösung	Zuwachs mm/h	Hemmung (—) %
Erbsenextrakt 1:10.	0,991	+ 0,15
Heteroauxin $1:10^8$	0,792	—19,97
	0,781	—21,09
Mischlösung unverdünnt. . . .	0,991	+ 0,15
	0,987	— 1,94
Mischlösung 1:10.	0,980	— 1,98
	1,002	+ 1,26
Mischlösung 1:100	0,994	+ 0,45
	0,979	— 2,25
Wasserkontrollen	0,982	
	0,997	

In der Versuchslösung ist die durch Heteroauxin bedingte Hemmung (von etwa 20%) nicht aufgetreten, d. h. der Erbsenextrakt ist aktiv.

3. Einwirkung von Erbsenextrakt auf Kressewurzelextrakt. 50 Kressewurzeln, die in 40 Std eine Länge von 20—25 mm erreicht hatten, wurden zerrieben. Sie wurden mit 50 cm³ Wasser 24 Std bei 40° extrahiert und sodann filtriert. Ein Teil des Filtrates wurde in den üblichen Verdünnungsstufen (von 1 bis $1:10^{10}$) getestet. Außerdem wurden 9 cm³

Filtrat mit 1 cm³ Erbsenextrakt versetzt. Diese Mischung verblieb 24 Std lang bei 27°. Danach wurde sie aufgekocht und ebenfalls eine Verdünnungsreihe bis $1:10^{10}$ getestet. Die Ergebnisse sind in Abb. 5 dargestellt.

Der unbehandelte Kressewurzelextrakt weist 2 getrennte Föderungsbereiche auf. Beim fermentbehandelten Kressewurzelextrakt ist ein Förderungsbereich verschwunden, und zwar derjenige, der zwischen $1:10^8$ und $1:10^4$ liegt. Wie aus dem Vergleich mit der Heteroauxinstandardkurve hervorgeht, ist dieses aber der Förderungsbereich des

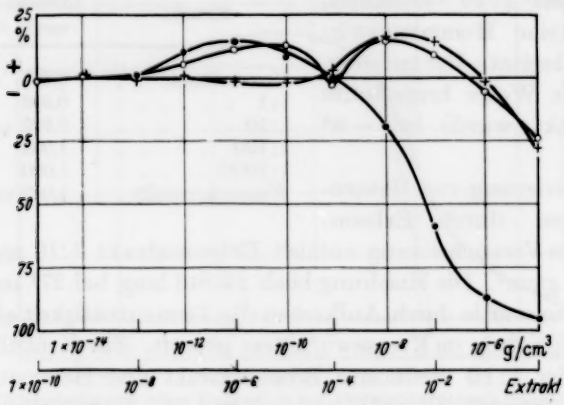


Abb. 5. Die Wirkungskurve eines Kressewurzelextraktes (o—o) und eines fermentbehandelten Wurzelextraktes (+——+) in Beziehung gesetzt zur Heteroauxinstandardkurve, aufgenommen mit Kresse 1947 (●—●). Versuche Herbst 1948.

Heteroauxins. Der 2. Wuchsstoff wird nicht durch die Fermentbehandlung inaktiviert. Damit ist bewiesen, daß die Kresse außer Heteroauxin noch einen 2. Wuchsstoff enthält.

IV. Über die Natur des 2. Wuchsstoffes.

Seit langem ist bekannt, daß in *Lepidium sativum* ein Senfölglykosid vorkommt, das den Namen Glykotropaeolin erhalten hat (Hofmann 1874, Gadamer 1899a u. b, Termeulen 1900). Bei der enzymatischen Spaltung durch Myrosin entsteht Benzylsenföl, in Gegenwart von heißem Wasser dagegen Phenylessigsäure-nitril (Benzylcyanid). Wir vermuteten, daß der 2. Wuchsstoff sich vom Glykotropaeolin ableitet und in irgendeiner Weise zur Phenylessigsäure in Beziehung steht. Daß Phenylessigsäure wachstumsfördernd wirkt, ist in verschiedenen Testen festgestellt worden. Sie ist allerdings weniger wirksam als Heteroauxin: im *Avena*-Test ist die Aktivität nur 1/5000, im Zylindertest 1/1000, im Erbsentest 1/25 gegenüber Heteroauxin (Haagen-Smit und Went 1935; Koepfli, Thimann und Went 1938; Veldstra 1943/45).

Wir prüften im Kressewurzeltest sowohl Phenylessigsäure-nitril als auch Phenylessigsäure (Abb. 6).

Nur Phenylessigsäure wirkt wachstumsfördernd, und zwar in einem Bereich von 10^{-10} bis 10^{-7} g/cm³, Heteroauxin ist etwa 100 mal wirksamer, wie aus dem Vergleich der Grenzkonzentrationen und der Lage der Optima abzulesen ist.

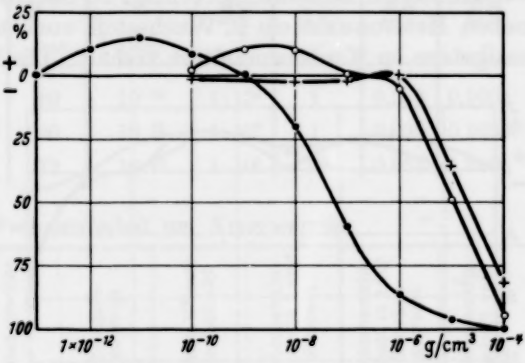


Abb. 6. Die Wirkungskurven von Phenylessigsäure (o—o), Phenylessigsäure-nitril (+—+) und Heteroauxin (●—●).

Es erwies sich, daß durch Erbsenextrakt Phenylessigsäure nicht inaktiviert wird.

Wenn Phenylessigsäure oder eine ihr nahestehende Verbindung neben Heteroauxin in der Kresse vorkommt, dann sollten Lösungsgemische beider Substanzen im Kressewurzeltest ähnliche 2gipflige Wirkungskurven zeigen wie natürliche Kresseextrakte. Es wurden Modellversuche angestellt, von denen in Abb. 7 drei charakteristische Kurventypen wiedergegeben sind.

Versuchslösung	Zuwachs mm/h	%
Erbsenextrakt 1:10 . . .	0,994	— 0,80
	1,003	— 0,01
Phenylessigsäure $1:10^5$ . .	0,551	—48,90
	0,504	—49,60
Mischlösung	0,520	—48,06
	0,510	—49,06
	0,507	—49,36
Wasserkontrollen	0,998	
	1,003	
	1,004	

1. Es wurde Heteroauxin und Phenylessigsäure im Verhältnis 10:1 geboten. Die Ausgangslösung enthielt $1:10^4$ g/cm³ Heteroauxin und $1:10^5$ g/cm³ Phenylessigsäure. Davon wurden Verdünnungsstufen bis $1:10^9$ hergestellt und getestet. Die Kurve zeigt 2 völlig getrennte Förderungsbereiche. Der gleiche Kurventyp wurde erhalten mit Samenextrakten 1950 (Abb. 3) und mit Wurzelextrakten 1947 (Abb. 5).

2. Heteroauxin und Phenylessigsäure wurden im Verhältnis 1:1 geboten. Die Ausgangslösung enthielt von beiden Verbindungen $1:10^5$ g/cm³. Die Kurve zeigt einen breiten Förderungsbereich, bei dem noch andeutungsweise 2 Optima erkennbar sind. Ein ähnlicher Kurventyp wurde mit Wurzelextrakten 1947 erhalten (Abb. 2).

3. Heteroauxin und Phenylessigsäure wurden im Verhältnis 1:10 geboten. Die Ausgangslösung enthielt $1:10^7$ g/cm³ Heteroauxin und

$1:10^6$ g/cm³ Phenylessigsäure. Die Kurve zeigt einen Förderungsbereich, der im Vergleich zur Heteroauxinstandardkurve verbreitert ist. Einen solchen Kurvenverlauf ergab der Samenextrakt 1947 (Abb. 2) und die Extrakte 1944 (Abb. 1).

Ein Vergleich der Kurven der Modellversuche und der Kurven der verschiedenen Extrakte berechtigt zu der Annahme, daß in der Kresse neben Heteroauxin ein 2. Wuchsstoff vorkommt, der sich wie Phenylessigsäure im Kressewurzeltest verhält. Die Modellversuche zeigen, daß Heteroauxin erst zur Wirkung kommt, wenn die Lösungsgemische Phenylessigsäure unterhalb ihrer Grenzkonzentration (etwa $1:10^{10}$ g/cm³) enthalten. In Gegenwart höherer Dosen von Phenylessigsäure verhält sich Heteroauxin inaktiv. Die Ursache dieses Phänomens ist noch unbekannt.

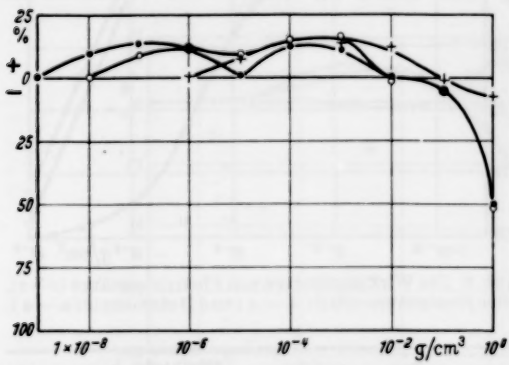


Abb. 7. Wirkungskurven von Gemischen von Heteroauxin und Phenylessigsäure. 1. Heteroauxin $1:10^4$ g/cm³, Phenylessigsäure $1:10^5$ g/cm³ (●—●), 2. Heteroauxin $1:10^6$ g/cm³, Phenylessigsäure $1:10^4$ g/cm³ (○—○), 3. Heteroauxin $1:10^7$ g/cm³, Phenylessigsäure $1:10^4$ g/cm³ (+—+). Auf der Abszisse sind die Verdünnungsstufen der 3 Lösungsgemische eingetragen.

V. Berechnung des Wuchsstoffgehaltes der Extrakte.

Nachdem feststeht, daß Heteroauxin der wirksamere der beiden Wuchsstoffe ist, ist aus den aufgenommenen Kurven die Heteroauxinmenge der Extrakte zu berechnen. Abzulesen ist derjenige Punkt, an dem die Förderung soeben einsetzt. Er zeigt diejenige Heteroauxindosis an, die der Grenzkonzentration der Standardkurve entspricht. Die beiden Wirkungskurven müssen an diesem Punkt zur Deckung gebracht werden. Aus diesem Wert ergibt sich die Heteroauxinmenge, die im unverdünnten Extrakt enthalten sein muß.

In Tabelle 1 ist der Wuchsstoffgehalt von Samen, in Tabelle 2 derjenige von Wurzeln verschiedener Jahrgänge zu finden. Die Ernten 1944 und 1947 unterscheiden sich im Heteroauxingehalt nur wenig. Dagegen weisen die 1950er Samen einen wesentlich höheren Wuchsstoffgehalt auf. Wird als Bezugsgröße das Trockengewicht gewählt, dann beträgt der Faktor etwa 10, werden die Heteroauxinmengen eines Samens betrachtet, dann ist er etwa 12,5.

Will man den Gehalt des 2. Wuchsstoffes abschätzen, dann müssen zum Vergleich die Wirkungskurven der Modellversuche (Abb. 7) herangezogen werden. Die Kurven der Samenextrakte 1944 und 1947 stimmen

Tabelle 1. *Wuchsstoffgehalt der Samen verschiedener Jahrgänge.*

Saatgut	Zahl der Samen (Embryonen)	Gewicht eines Embryos mg	Gewicht der zerriebenen Samen mg	Menge Wasser für Extrakt cm^3	Grenzzentrationen: Heteroauxin g/cm^3	Grenzzentrationen: Extraktverdünnung	Heteroauxingehalt in 1 cm^3 Extrakt γ	Heteroauxingehalt in 1 mg Samen γ	Heteroauxingehalt von einem Samen γ
1944	100	0,35	35	10	10^{-13}	1:10^7	1	0,286	0,1001
1947	250	1,05	210	20	10^{-13}	1:10^7	1	0,095	0,10355
1950	250	1,35	335	32	10^{-13}	1:10^8	10	0,955	1,289

Tabelle 2. *Wuchsstoffgehalt von Kressewurzeln.*

Saatgut	Länge der Wurzeln mm	Zahl der Wurzeln	Frischgewicht mg	Trockengewicht mg	Menge Wasser für Extrakt cm^3	Heteroauxingehalt in 1 cm^3 Extrakt γ	Heteroauxingehalt in 1 mg Trockengewicht γ	Heteroauxingehalt von einer Wurzel γ
1944	5—6	100	100	15	10	1	0,67	0,1
1947	1—4	—	22	3,3	20	1	0,606	—
1947	20—25	50	120	16,4	50	1	0,305	0,1

mit dem Modellversuch 3 überein, bei dem Heteroauxin und Phenylessigsäure im Verhältnis 1:10 geboten wurde. Die Kurve des Samenextraktes 1950 dagegen entspricht dem Modellversuch 1, bei dem Heteroauxin und Phenylessigsäure 10:1 geboten wurde.

Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß der Wuchsstoffgehalt von Kressesamen der gleichen Herkunft, aber verschiedener Jahrgänge verschieden hoch sein kann. Darin dürfte die Ursache für die unterschiedliche Empfindlichkeit des Testmaterials gegenüber Heteroauxin zu suchen sein. Wuchsstoffarmes Saatgut (1944, 1947) ist besser geeignet zum Nachweis kleinster Wuchsstoffmengen. Jedoch ist es möglich, auch wuchsstoffreicheres Saatgut (1950) zu verwenden, wenn die Versuchsbedingungen dahin abgeändert werden, daß dieser Faktor berücksichtigt wird (L. Moewus).

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Werden Extrakte aus Samen und Wurzeln von *Lepidium sativum* im Kressewurzeltest geprüft, so lassen sich Wirkungskurven aufstellen, die von einer Heteroauxinstandardkurve abweichen. Sie weisen entweder einen stark verbreiterten Förderungsbereich auf, oder sogar 2

— mehr oder weniger deutlich — getrennte Förderungsbereiche. Daraus ist auf das Vorkommen von 2 verschiedenen Wuchsstoffen zu schließen. Bei Behandlung der Kresseextrakte mit Erbsenextrakt, in dem ein heteroauxininaktivierendes Fermentsystem enthalten ist, wird die Wirksamkeit der Kresseextrakte verändert. Es ist jetzt nur noch ein Wuchsstoff nachweisbar, der nicht mit Heteroauxin identisch sein kann.

Es ließ sich zeigen, daß dieser 2. Wuchsstoff eine Aktivität entfaltet, wie sie im Kressewurzeltest für Phenylessigsäure festgestellt wurde. Phenylessigsäure oder eine ähnliche Verbindung könnte im Extrakt enthalten sein, wenn man annimmt, daß sie bei der Extraktbereitung aus dem Senfölglykosid Glykotropaeolin der Kresse durch Abbau entstanden ist. Mit anderen Wuchsstofftesten ist die wachstumsfördernde Wirkung von Phenylessigsäure bereits nachgewiesen. In Modellversuchen, bei denen Heteroauxin und Phenylessigsäure in verschiedenen Mischungsverhältnissen im Kressewurzeltest gleichzeitig geboten wurden, konnten ähnliche Wirkungskurven erhalten werden, wie die Extrakte geliefert hatten. Der Heteroauxingehalt der Samen Jahrgang 1950 ist etwa 18mal höher als derjenige von 1944 und 1947.

Literatur.

Gadamer, J. W.: Ber. dtsch. chem. Ges. **32**, 2335 (1899a). — Arch. Pharmaz. **237**, 509 (1899b). — Haagen-Smit, A. J., and F. W. Went: Proc. Acad. Sci. Amsterd. **38**, 852 (1935). — Hofmann, A. W.: Ber. dtsch. chem. Ges. **7**, 1293 (1874). — Koepfli, J. B., K. V. Thimann and F. W. Went: J. of biol. Chem. **122**, 763 (1938). — Moewus, F.: Z. Naturforschg **3b**, 135 (1948). — Biol. Zbl. **68**, 58 (1949a). — Planta (Berl.) **37**, 413 (1949b). — Moewus, Liselotte: Planta (im Druck). — Tang, Y. W., and J. Bonner: Arch. Biochemistry **13**, 11 (1947). — Termeulen: Rec. Trav. chim. Pays-Bas et Belg. (Amsterd.) **19**, 33 (1900). — Veldstra, H.: Enzymologia **11**, 97 (1943/45).

Planta, Bd. 40, S. 265—300 (1952).

DER EINFLUSS WASSERLÖSLICHER VITAMINE AUF DIE WIRKSAMKEIT VON HETEROAUXIN IM WACHSTUMSPROZESS DER HÖHEREN PFLANZEN*.

Von

RUTH SCHEUERMANN.

Mit 20 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. August 1951.)

I. Einleitung und Problemstellung.

Die regulierende Wirkung von Heteroauxin auf das Wachstum der höheren Pflanze war eine der grundlegenden Entdeckungen für die pflanzliche Wuchsstofforschung. Heteroauxin kommt als natürlicher, zelleigener Wuchsstoff neben Auxin a und Auxin b in der höheren Pflanze vor. Wie Heteroauxin aber seine Wachstumswirkung hervorbringen kann, an welchen biochemischen Reaktionen der Zelle es beteiligt ist, diese Fragen mußten bis heute noch, trotz verschiedener Ansätze, ungeklärt bleiben. Es ist zwar sicher, daß dieser Wuchsstoff zunächst Veränderungen der Plasmastruktur hervorruft, also unmittelbar auf den Protoplasten einwirkt. Die Vielfalt der wuchsstoffbedingten Reaktionsbilder deutet aber darauf hin, daß durch ihn mehrere Sekundärprozesse in der Zelle ausgelöst und reguliert werden. Der Protoplast als Ganzes wird aus seiner vorliegenden stofflichen und energetischen Gleichgewichtslage in einen reaktionsfähigeren Zustand versetzt, der im Wachstumsprozeß Ausdruck und Ausgleich findet. Heteroauxin ist also Wirkstoff und aktiver Faktor in einem Plasmasystem, in dem sowohl ein Wuchsstoffdefizit als auch ein Mangel an wirksamen Plasmabausteinen zu begrenzenden Faktoren für das Wachstum werden können.

Als plasmogener Wirkstoff wird Heteroauxin heute allgemein als Koferment in einem Fermentsystem angesehen. Zu dieser Annahme führten besonders Wuchsstoffextraktionsversuche von THIMANN und SKOOG (1940, 1942, 1940). Dann konnte MOEWUS (1948) die Bindung von Heteroauxin in vitro an Eiweiß aus Kartoffelpreßsaft zeigen. Eine besondere Stütze erhielt diese Ansicht aber durch die Arbeit von BONNER und WILDMAN (1947). Sie brachte die Isolierung einer heteroauxinhaltigen Cytoplasmafraktion aus Spinatblättern, die Phosphataseeigenschaft besaß und sich in der Tiseliusapparatur homogen erwies.

* Herrn Prof. Dr. HANS SÖDING gilt mein Dank für das Thema und für sein Interesse an der vorliegenden Arbeit. Die Arbeit wurde durchgeführt im Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg. Herrn Prof. Dr. WALTER MEVIUS danke ich für die Erlaubnis, diese Arbeit in seinem Institut auszuführen.

Auf Grund dieser gegebenen Voraussetzungen, nämlich 1. der Beziehungen des Wuchsstoffes zum Plasma, 2. der Kofermentnatur von Heteroauxin wurde in der vorliegenden Arbeit versucht, Beziehungen von Heteroauxin zu einigen wasserlöslichen Vitaminen aufzufinden. Es wurde die Wirksamkeit von Askorbinsäure, Laktoflavin, Aneurin, Nikotinsäureamid, Biotin und Pantothensäure im Wachstumsversuch sowohl für die Bildung von Adventivwurzeln als auch für das Streckungswachstum untersucht.

Voraussetzung für den normalen Ablauf der Wachstumsprozesse ist das planvolle Zusammenwirken aller beteiligten Biokatalysatoren, die teils fördernd, teils hemmend aufeinander einwirken können. Die verwendeten Vitamine, ausgenommen Vitamin C, dessen Kofermentnatur noch nicht gesichert ist, fungieren ebenso wie Heteroauxin als Kofermente in Holofermenten.

Es lag daher nahe, eine synergistische oder antagonistische Beeinflussung der Wachstumswirkung von Heteroauxin durch diese Wirkstoffe zu vermuten.

Für die vorliegende Arbeit ergibt sich damit die Prüfung folgender Fragen:

1. Ist ein Einfluß von wasserlöslichen Vitaminen auf die Wirksamkeit von Heteroauxin überhaupt vorhanden?

2. Durch welchen Wirkungsmechanismus beeinflussen die Vitamine Wuchsstoff und Wachstum?

3. Lassen sich Rückschlüsse ziehen aus den Beziehungen von Wuchsstoff und Vitaminen auf den Wirkungsmechanismus von Heteroauxin?

II. Methodik.

A. Meristematisches Wachstum (Wurzelbildung).

Als Versuchspflanze wurde *Phaseolus multiflorus* (Sorte Preisgewinner) verwendet. Es sollte die Aktivität der oben genannten Wirkstoffe für die Wurzelbildung festgestellt werden. Die Versuche wurden im Gewächshause unter Dunkelstürzen durchgeführt.

Die Bohnen wurden verdunkelt aufgezogen und die Stengel vor der Entfaltung der Primärblätter im Dunkelzimmer bei rotem Licht abgeschnitten und sofort gewogen. Für die einzelnen Vergleichsserien wurden nur Stecklinge mit weitgehend gleichem Gewicht und übereinstimmender Epikotyllänge ausgewählt. Die Wuchsstoffbehandlung erfolgte nach dem Tauchverfahren. Die Stengel standen 16 bis 20 Std in der jeweiligen Wirkstofflösung. Sie wurden dann einzeln in Reagensgläsern in Leitungswasser zur Ausbildung von Adventivwurzeln im Dunkeln weiter kultiviert. Die verwendete Wirkstofflösung wurde entweder mit Leitungswasser oder mit Nährlösung angesetzt. Als Nährlösung kam eine nach ROBBIN modifizierte PFEFFERsche Lösung von folgender Konzentration zur Anwendung (BURLET 1940):

6000 cm³	Aqua bi-dest.	0,5 g	$MgSO_4$
2 g	$Ca(NO_3)_2$	0,25 g	KCl
0,5 g	KH_2PO_4	0,005 g	$FeCl_3$
0,5 g	KNO_3		

Der p_H-Wert der Lösung betrug 5,0—5,2.

Die schwach saure Lösung wurde besonders zur Stabilisierung der Askorbinsäure angewandt. Bei der Auflösung von Laktoflavin blieb auch noch nach kurzem Aufkochen der Laktoflavinlösung stets ein geringer Rückstand. Er wurde vor Verwendung des Laktoflavins abfiltriert. Die Wirkstoffe waren bezogen von der Firma Bayer, Leverkusen. Das Laktoflavinpräparat lieferte die Firma Hoffmann-La Roche.

Die Versuchsdauer betrug ungefähr 3 Wochen. Nach Ablauf dieser Zeit waren mit Sicherheit alle Anlagen so weit entwickelt, daß sie wenigstens als kleine Knötchen äußerlich sichtbar waren. Querschnittserien durch den Stengel bewiesen, daß wirklich alle gebildeten Wurzeln und Anlagen bei der Auszählung erfaßt wurden. Ausgewertet wurde im Versuch die Summe der gebildeten Wurzeln und der äußerlich am Stengel sichtbaren Wurzelanlagen. Zuwachs und Entwicklung am Sproß kamen nicht zur Auswertung.

B. Streckungswachstum.

Testobjekt war die Avenakoleoptile.

Die Koleoptilen wuchsen wie üblich im Dunkeln in Töpfen mit Sägemehl zu einer Länge von ungefähr 2 cm heran. Nach Entfernung des Primärblattes wurden dann aus der Spitzenregion, 2 mm unterhalb der Spitze, zwei Segmente von 3—4 mm Länge mit einem Schneideapparat aus parallel gestellten Rasierklingen herausgeschnitten. Die Zylinder wurden sogleich nach dem Schneiden auf feine Glasnadeln in Serien zu je 10 hintereinander aufgereiht. Die Koleoptilstückchen kamen zunächst ungefähr 6 Std lang in die oben angegebene Nährlösung, die hier außerdem noch stets 1% Glukose enthielt. Durch diese Vorbehandlung sollte eine volle Turgeszenz der Koleoptilzellen gewährleistet werden (Rietsema 1950). Die Segmente wurden danach in Petrischalen mit der jeweiligen Wirkstofflösung übertragen. Für jeden Versuch wurden die Wirkstofflösungen neu bereitet. Nur für Pantothensäure und Tryptophan waren sterile Stammlösungen im Gebrauch. Wenn keine besonderen Angaben gemacht sind, betragen die Konzentrationen für die Vitaminlösungen im Zylindertest:

Heteroauxin	2 mg/l
Vitamin C	100 mg/l
Aneurin	5 mg/l
Nikotinsäureamid	5 mg/l
Laktoflavin	5 mg/l
Pantothensäure	5 mg/l
Biotin	0,5 mg/l

Die Wirksamkeit der Askorbinsäure wurde teilweise bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung untersucht. Die Einstellung der jeweiligen p_H-Werte erfolgte mit n/70 KOH.

Es wurde besonders darauf geachtet, daß die Koleoptilzylinder an der Oberfläche der Nährlösung haften blieben, damit der Sauerstoffzutritt und damit die Atmung des Gewebes nicht gehindert wurde. Während des Versuches blieben die Zylinder verdunkelt. Nur der Zuwachs der Koleoptilsegmente wurde am Tageslicht vor dem Horizontalmikroskop abgelesen (1 Skalenteil = 0,75 mm).

III. Hauptteil.

A. Der Einfluß der Vitamine auf die Bildung von Adventivwurzeln.

Die bisher vorliegenden Versuche über eine positive Beeinflussung der Stecklingsbewurzelung durch Vitamine haben noch zu keinem allgemein gültigen Ergebnis führen können. Über eine Förderung durch

Askorbinsäure, Aneurin und Laktoflavin für die Adventivwurzelbildung an blattlosen Internodien von *Callisia repens* berichten AMLONG und NAUNDORF (1938). Arbeiten von WARNER und WENT (1939), von BONNER und GREENE (1938) und von BONNER, WARNER und WENT (1938) zeigen den günstigen Einfluß von Aneurin bei der Stecklingsbewurzelung. Als begrenzender Faktor für die Bildung von Adventivwurzeln bei der Erbse wurde Biotin von WENT und THIMANN (1937) angegeben.

Aus den Versuchen von KÜNNING (1950) geht klar hervor, daß außer Heteroauxin auch noch eine Reihe anderer stofflicher Faktoren Zellteilungen im Kambium und Perizykel dekapitierter Keimlinge von *Phaseolus multiflorus* und *Helianthus annuus* bewirken können. Aneurin und besonders Askorbinsäure zeigten sich aktiv. Der Übergang von Dauergewebe in Meristemgewebe ist also möglich bei Einwirkung mehrerer Wirkstoffaktoren.

Die Entstehung von Adventivwurzeln setzt zunächst einmal den Übergang von Dauerzellen in meristematisches Gewebe voraus. Dann muß aber noch eine Determinierung dieser Zellen zu Wurzelgewebe hinzukommen. Für beide Schritte fungiert Heteroauxin als Regulator. Ob darüber hinaus auch ein Einfluß der Vitamine auf die Stecklingsbewurzelung festzustellen ist, sollten die folgenden Versuche klären.

Die autotrophe höhere Pflanze ist normalerweise in der Lage, ihre Wirkstoffe selbst zu synthetisieren. Erst in Organkulturen oder bei etiolierten Pflanzen, also bei gehemmter Eigenproduktion, zeigt sich die Notwendigkeit der verschiedenen Wirkstoffe für das Wachstum. In Vorversuchen mit grünen Bohnenstecklingen konnte daher sogar durch Heteroauxingaben kein nennenswerter Unterschied zu den sich gut bewurzelnden Kontrollen gefunden werden. Eine Vitaminbehandlung war ohne sichtbaren Einfluß. Völlig anders verhielten sich dagegen dunkel gehaltene Pflanzen. Durch die Versuchsbedingungen war ihr Vitamingehalt offenbar künstlich niedrig gehalten worden. — Nach der Methode von TILLMANNS (GSTIRNER 1940) ließ sich z. B. für dunkel gehaltene Stecklinge ein Defizit im Askorbinsäuregehalt von 35% gegenüber grünen Bohnenstecklingen feststellen. Auch der Gehalt an Vitamin B_1 ist lichtabhängig (BONNER und GREENE 1938). Für die übrigen Vitamine wurden die Unterschiede nicht bestimmt, aber aus der Reaktion der Stecklinge ging im Versuch hervor, daß auch bei diesen ein Wirkstoffdefizit vorliegen muß. Der Unterschied im Tryptophangehalt, der Muttersubstanz für Heteroauxin, betrug nach eigenen Untersuchungen bei den verwendeten Bohnenstecklingen 34% (ROTH 1939).

Die folgenden Tabellen geben die Wirksamkeit der angewandten Vitamine für die Bildung von Adventivwurzeln an. Es wurden die Ergebnisse einzelner, zu verschiedenen Zeiten durchgeführter Versuche wiedergegeben. Normalerweise erhielten je 10 Stecklinge die gleiche

Behandlung. Die aufgeführten Daten in den Tabellen stellen also Mittelwerte dar aus 10 Einzelergebnissen. Nur der Tabelle 1a liegen jeweils 28 Einzelergebnisse zugrunde. Die Resultate stimmen weitgehend überein mit den übrigen nicht aufgeführten Versuchen, die in den Jahren 1949 und 1950 zur Durchführung gelangten.

Tabelle 1a.

	Konzentration mg/l	Gewicht g	Bewurzelung in % der Kontrolle	Absolute Zahl der Wurzeln
Kontrolle		2,177	100 ± 5,7	10,5
Heteroauxin	40	1,998	259,0	
Askorbinsäure	150	2,280	128,3	
Aneurin	40	2,110	129,9	
Nikotinsäureamid	40	2,100	117,3	

Tabelle 1b.

	Konzentration mg/l	Gewicht g	Bewurzelung in % der Kontrolle	Absolute Zahl der Wurzeln
Kontrolle		1,206	100 ± 8,7	12,6
Heteroauxin	40	1,094	236,3	
Askorbinsäure	150	1,092	121,6	
Aneurin	40	1,091	127,0	
Nikotinsäureamid	40	1,106	108,2	
Laktoflavin	40	1,070	110,8	
Pantothensäure	40	1,055	103,4	
Biotin	10	1,073	102,2	

In den Tabellen 1a und b sind die Ergebnisse zweier Versuche mit den einzelnen Vitaminen angegeben. Sie liegen zeitlich ungefähr 1 Jahr auseinander. Den Werten aus Tabelle 1a liegt ein Versuch vom 21. November 1949 zugrunde. Tabelle 1b enthält die Ergebnisse eines Versuches vom 25. August 1950.

Zweifellos ist eine günstige Wirkung von Vitamin B_1 und Vitamin C auf die Adventivwurzelbildung bei den etiolierten Bohnen vorhanden. Eine schwache Förderung bei Berücksichtigung aller durchgeführten Versuche scheint auch auf die Aktivität von Laktoflavin und Nikotinsäureamid hinzudeuten. Allerdings liegen ihre Bewurzelungszahlen oft noch innerhalb der Fehlergrenze. Mit Pantothensäure und Biotin ließ sich kein nennenswerter Erfolg erzielen.

Sämtliche Wirkstoffe beeinflußten dagegen das Streckungswachstum von vorhandenen Wurzelanlagen günstig. Auch beim Streckungswachstum schon angelegter Wurzeln erwiesen sich Askorbinsäure, Aneurin und Laktoflavin besonders aktiv.

Kombinationsversuche mit Heteroauxin und den Vitaminen führten durchaus zu den gleichen Ergebnissen.

Tabelle 2.

	Konzentration mg/l	Gewicht g	Bewurzelung in % der Kontrolle	Absolute Zahl der Wurzeln
Kontrolle		1,206	100	12,6
Heteroauxin	40	1,094	236,3 ± 20,3	
Heteroauxin + Vitamin C	40 + 150	1,052	298,2	
Heteroauxin + Aneurin . .	40 + 40	1,086	288,9	
Heteroauxin + Laktoflavin	40 + 40	1,087	292,8	
Heteroauxin + Nikotinsäureamid	40 + 40	1,064	244,0	

Tabelle 2 demonstriert wieder die Förderung durch Vitamin C, Aneurin und Laktoflavin. Biotin und Pantothensäure blieben wirkungslos. Eine positive Beeinflussung durch Nikotinsäureamid erschien nicht gesichert. Die Versuchsergebnisse stammen vom 25. August 1950.

Der fördernde Einfluß von Vitamin C blieb auch erhalten, wenn Askorbinsäure in der oxydierten Form vorlag. Es ließ sich z. B. kein Unterschied feststellen bei der Anwendung von Nährlösung, deren p_H-Wert die Stabilität der Askorbinsäure weitgehend begünstigt, oder bei Verwendung von Leitungswasser als Lösungsmittel, durch dessen Gehalt an Eisenionen die Askorbinsäure in Gegenwart von Luftsauerstoff rasch dehydriert wird. Da sich in den Haferversuchen nur die Dienolform der Askorbinsäure als förderlich erwies, wird angenommen, daß ein größerer Vorrat an zelleigenen, reduzierenden Stoffen bei den Bohnenstecklingen die hydrierte Form wieder herstellen kann.

Die günstige Wirkung von Laktoflavin geht aus den Tabellen 1a und b und 2 hervor. In Kombination mit Heteroauxin förderte Laktoflavin die Wurzelbildung, wenn die Dauer der Vitamineinwirkung etwa 16—24 Std betrug. Bei längerer Tauchzeit von ungefähr 48 Std zerstörte Laktoflavin die Wirksamkeit von Heteroauxin aber fast vollständig (Tabelle 3). Die Steigerung des Wurzelstreckungswachstums durch den Einfluß des Vitamins blieb jedoch erhalten. Ein Vergleich mit der Heteroauxinkontrolle (Abb. 1) überzeugt sofort, daß der Wuchsstoff hier nicht zur Wirkung kommen konnte. Während durch die Heteroauxinbehandlung eine große Anzahl von Wurzeln und Wurzelanlagen

Tabelle 3. (Versuchsdatum 9. Oktober 1950.)

	Konzentration mg/l	Gewicht g	Bewurzelung in % der Kontrolle	Absolute Zahl der Wurzeln
Kontrolle		0,946	100 ± 9,4	11,6
Heteroauxin	40	0,891	200,0	
Heteroauxin + Laktoflavin	40 + 40	0,925	122,4	
Laktoflavin	40	0,907	112,0	

gebildet werden, fehlen die als kleine Erhebungen äußerlich sichtbaren Anlagen im Kombinationsversuch bei längerer Laktoflavineinwirkung vollkommen. Laktoflavin kann also Heteroauxin sowohl fördernd als auch hemmend beeinflussen.

Abb. 1. Wirkung von Laktoflavin auf die Bildung von Adventivwurzeln in Kombination mit Heteroauxin. Links: Kontrolle, Mitte: Heteroauxin, rechts: Heteroauxin plus Laktoflavin.

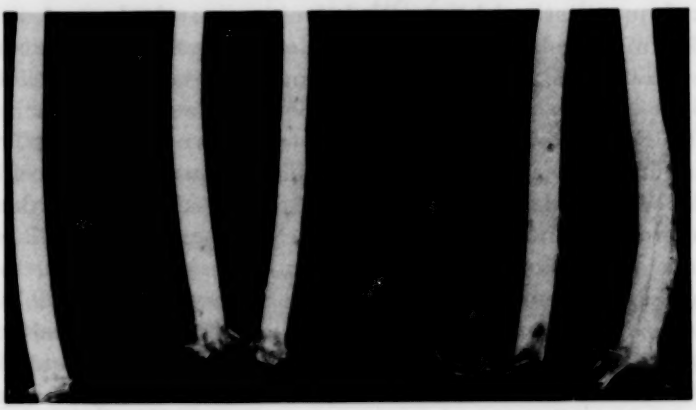


Abb. 2. Förderung durch Aneurin in Kombination mit Heteroauxin. Links: Kontrolle, Mitte: Heteroauxin, rechts: Heteroauxin plus Aneurin.

Wie zu erwarten, begünstigten alle Vitamine auch in den Kombinationsversuchen das Streckenwachstum der gebildeten Wurzelanlagen (Abb. 2). Unter ihrem Einfluß entwickelten sich fast alle durch Heteroauxin induzierten Anlagen zu intakten Wurzeln, während sie mit Heteroauxin allein zum größten Teil die Rinde nicht durchbrechen konnten und äußerlich nur als kleine Erhebungen sichtbar blieben.

Die Bedeutung von sog. „accessory growth factors" für das Wachstum geht aus einer Reihe von Arbeiten hervor (Warner und Went 1939,

BONNER und GREENE 1938, BONNER, WARNER, WENT 1938, BONNER und ADDICOTT 1937, BONNER und BONNER 1938, BONNER und AXTMANN 1937, BONNER 1937, BONNER und ADDICOTT 1938, BONNER 1938).

Vor allem sind Aneurin, Askorbinsäure, Nikotinsäureamid und Pantothensäure als Förderstoffe für das Streckungswachstum von Wurzeln und isolierten Erbsenembryonen beschrieben worden. Als wirkende Prinzipien bei der Bildung von Wurzelanlagen wurden dagegen diese „accessory growth factors", speziell Aneurin, ausdrücklich abgelehnt. Nach BONNER, WARNER und WENT (1938) begünstigt Aneurin nur das Wachstum von gebildeten Anlagen.

Ohne Zweifel ist der Wuchsstoff der primäre Aktivator bei der Neubildung von Wurzeln. In keinem Falle ließ sich die Wirksamkeit der Vitamine mit der Heteroauxinaktivität vergleichen. Aber die erhaltenen Versuchsergebnisse stützen doch die Annahme, daß die Bildung von Adventivwurzeln nicht allein eine Funktion des Wuchsstoffes ist, sondern ähnlich wie die Zellteilung im Kambium, die Anwesenheit mehrerer Wirkstoffe erfordert. Der Wuchsstoff gibt zur Entwicklung den Impuls. Durch sein Eingreifen können Zellteilungen ausgelöst werden. Aber ohne das Zusammenwirken von Wuchsstoff und Plasmawirkstoffen in qualitativ und quantitativ richtigem Verhältnis zueinander kommt die durch Heteroauxin ausgelöste Wachstumskettenreaktion vorzeitig zum Stillstand. Das ließ sich sowohl bei der Bildung von Adventivwurzeln als auch beim Streckungswachstum bereits gebildeter Wurzelanlagen beobachten. In beiden Fällen wirkte ein Vitaminzusatz z. B. von Askorbinsäure oder Aneurin günstig. Die Plasmawirkstoffe müssen demnach schon bei der Bildung der Wurzelanlagen notwendig sein. Sekundär käme außerdem noch eine fördernde Wirkung auf das Auswachsen schon gebildeter Anlagen hinzu. Für beide Vorgänge ließ sich unter den beschriebenen Versuchsbedingungen die begrenzende Wirkung der Plasmawirkstoffe direkt beobachten.

Ob die Vitamine auch bei der Determinierung meristematischer Zellen zu Wurzelgewebe beteiligt sind, kann nicht entschieden werden. Es kann möglich sein, daß die Plasmawirkstoffe die Wurzelbildung nur begünstigen durch Förderung des meristematischen Wachstums. Die Determinierung müßte dann noch von einem zusätzlichen Faktor abhängig sein.

Neben Heteroauxin sind also die Vitamine für die Adventivwurzelbildung von entscheidender Bedeutung. Daß ihr Einfluß auf die Stecklingsbewurzelung im Gegensatz zur Wirksamkeit von Heteroauxin normalerweise nicht in Erscheinung tritt, hat seinen Grund in der reichlichen Versorgung der grünen Stecklinge mit diesen Wirkstoffen.

B. Der Einfluß der Vitamine auf das Streckungswachstum.

Für das meristematische Wachstum ist das Zusammenwirken von Wuchsstoff und Protoplast mit seinen Plasmawirkstoffen als notwendige

Vorbedingung erkannt worden. Nach den Arbeiten von BLANK und FREY-WYSSLING (1940, 1941) scheint aber die Abhängigkeit der Heteroauxinwirksamkeit vom reagierenden Plasma auch beim Streckungswachstum vorhanden zu sein. Der Einfluß der sog. „food factors" in WENTS (1939) Versuchen legt ebenfalls diese Deutung nahe. Die Zellstreckung kann also nicht nur als einfache Wasseraufnahme erklärt werden. Wenn für das Streckungswachstum ebenso wie für die Zellteilung ein gemeinsames Eingreifen von Wuchsstoff und Plasma erforderlich ist, so sollte man auch bei der Zellstrekkung eine Beeinflußbarkeit der Heteroauxinwirkung durch die Vitamine erwarten können.

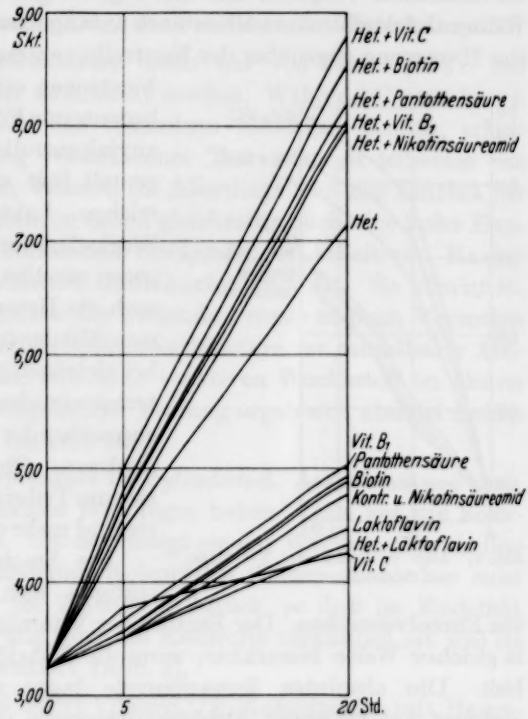


Abb. 3. Übersicht über die Wirksamkeit der einzelnen wasserlöslichen Vitamine im Zylindertest.

Da die Haferkoleoptile im Test auf Heteroauxin mit Sicherheit nur durch Zellstreckung reagieren kann (AVERY und BURKHOLDER 1936), war sie für die Prüfung dieser Annahme das geeignete Untersuchungsobjekt. Der sonst übliche Zylindertest erfuhr allerdings eine Abwandlung. Es wurde nämlich nicht destilliertes Wasser, sondern die oben angegebene Nährlösung als Lösungsmittel für die Wirkstoffe benutzt. Durch den Einfluß der Nährlösung zeigten die Koleoptilzylinder einen beträchtlichen Zuwachs mit einem nur geringen mittleren Fehler, der durchschnittlich für die Kontrolle 0,08 Skalenteile, für die Heteroauxinkontrolle 0,17 Skalenteile betrug. Der durch diese Methodik erhaltene Zuwachs liegt bedeutend höher als die Zuwachswerte, die in den sonst üblichen Zylindertesten erhalten werden. Durch die veränderte Methode war aber vor allem die Möglichkeit gegeben, auch kleine Zuwachsunterschiede, wie sie tatsächlich durch die Vitamine hervorgerufen werden, exakt zu erfassen.

Wie in den Bohnenversuchen wurde auch im Zylindertest die Aktivität der Vitamine einzeln und in Kombination mit Heteroauxin

untersucht. Abb. 3 gibt in einer Übersicht die durchschnittlich im Test erhaltenen Verhältnisse wieder. Den dargestellten Zuwachskurven liegt ein Versuch vom 16. März 1950 zugrunde.

Besonders auffällig ist die Wirkung von Askorbinsäure und Laktoflavin. Ihr Einfluß auf das Wachstum gibt sich auch schon ohne Messung bei einfachem Vergleich mit den zugehörigen Kontrollen zu erkennen. Während Askorbinsäure allein nach anfänglicher Förderung anscheinend eine Hemmung gegenüber der Kontrolle verursacht, bewirkt sie in Kombinationen mit Heteroauxin stets eine bedeutende Förderung über die Heteroauxinkontrolle hinaus. Das absolute Gegenteil läßt sich mit Laktoflavin erreichen. Laktoflavin allein hemmt das Wachstum der Koleoptilen schwach. Dagegen zerstört es im Kombinationsversuch die Heteroauxinwirkung vollkommen. Mit den übrigen Vitaminen läßt sich bei gleichzeitiger Anwesenheit von Heteroauxin eine Steigerung im Zuwachs gegenüber der Wuchsstoffkontrolle verzeichnen. Ohne Heteroauxin ergeben sie zum Teil eine geringe Förderung oder sie sind mehr oder weniger wirkungslos.

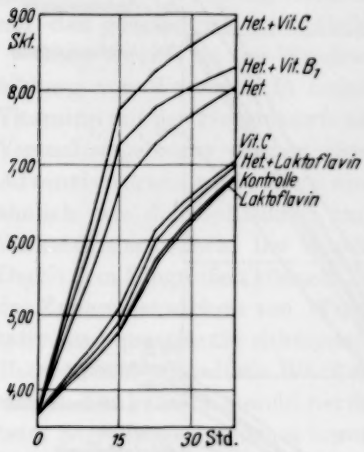


Abb. 4. Die Wirkung der Vitamine bei Maiskoleoptilen.

Die beschriebenen Ergebnisse bestätigen sich in einer großen Zahl von Einzelversuchen. Der Einfluß der Vitamine machte sich auch dann in gleicher Weise bemerkbar, wenn die Nährlösung keine Glukose enthielt. Die absoluten Zuwachswerte lagen aber verständlicherweise niedriger bei fehlender Kohlenhydratquelle (SCHNEIDER 1938).

Um zu prüfen, ob die erhaltenen Resultate ausschließlich für die Avenakoleoptile Geltung haben, wurden die Versuche mit Maiskoleoptilen nach derselben Methodik wie im Hafertest wiederholt. Es zeigte sich, daß Hafer- und Maiskoleoptilen prinzipiell völlig gleich reagieren. Nur der Absolutbetrag der Zuwachsraten war unterschiedlich und lag bei den Maiskoleoptilen höher. Der Grund dafür dürfte wohl in der besseren Versorgung der Maiszylinder mit Reservestoffen zu suchen sein. Abb. 4 veranschaulicht die Ergebnisse für die Versuche mit Askorbinsäure und Laktoflavin bei *Zea Mays*.

C. Der Wirkungsmechanismus der einzelnen Vitamine beim Wachstum der Haferkoleoptile.

Der benutzte Zylindertest erlaubt eine sichere, kurzfristige Prüfung der Vitaminaktivität. Durch Kombination mit verschiedenen reaktions-

fähigen Zusatzstoffen wurde eine Analyse der Wirkungsweise der Vitamine, vor allem von Askorbinsäure und Laktoflavin, versucht. Daß beide Wirkstoffe am Wachstumsvorgang teilnehmen, geht eindeutig aus den Testwerten hervor. Darum stand die Frage nach ihrer Funktion im Wachstumsprozeß im Vordergrund des folgenden Abschnittes.

1. Der Einfluß von Vitamin C auf das Wachstum der Haferkoleoptile.

Im Hafertest ist Askorbinsäure bisher nur von Clark (1937) und Raadts (1948) eingehender untersucht worden. Während Clark keinen Einfluß von Vitamin C auf das Wachstum feststellen konnte, erhielt Raadts unter Anwendung verschiedener Testverfahren teilweise eine Wachstumswirkung durch Vitamin C. Allerdings war ein Einfluß nur in den Zeiten zu beobachten, in denen gleichzeitig auch eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Heteroauxin vorlag. In der Arbeit von Raadts wird erklärt, daß Askorbinsäure als Redoxfaktor wirkt. Sie nimmt an, daß die Dehydroaskorbinsäure das wirkende Prinzip in ihren Versuchen ist. Für das Wachstum soll Dehydroaskorbinsäure nur mittelbarer Aktivator für die Auxine sein, indem sie inaktiven Wuchsstoff in aktives Auxin überführt. Nach eingehender Prüfung ergab sich aber in meinen Versuchen zum Teil ein anderes Bild.

a) Wirkung der Askorbinsäure im Zylindertest. Askorbinsäure kann, allein angewandt, verschiedene Wirkungen haben. Teils löst sie Förderung, teils Hemmung aus. Oft begünstigt sie das Wachstum zu Anfang des Versuches. Die behandelten Koleoptilen bleiben dann aber meist am zweiten Versuchstag im Wachstum zurück, so daß im Endeffekt keine wesentliche Steigerung über die Kontrolle vorhanden ist und oft sogar eine Hemmung resultiert (Abb. 3).

Ein völlig anderes Bild liefert Vitamin C in Kombination mit Heteroauxin. Hier fördert Askorbinsäure das Wachstum der Koleoptilzylinder konstant und beträchtlich. Oft übertraf die Kombination von Heteroauxin plus Askorbinsäure das Wachstum der mit Heteroauxin allein behandelten Zylinder um den gesamten Zuwachs der Kontrolle. Mit Vitamin C wurde in allen Kombinationsversuchen der höchste Zuwachs erzielt, ganz gleich zu welchen Jahreszeiten. Die positive Wirkung machte sich schon bei der ersten Ablesung geltend. Allerdings lag der Betrag der Förderung dann noch nicht so hoch wie zu Ende des Versuches.

Da Vitamin C allein nur unregelmäßig und gering wirkt, kann es als eigentlicher Wuchsstoff nicht in Frage kommen. Das wird auch von Raadts betont. Die absolute Regelmäßigkeit seiner Wirksamkeit in Kombination mit Heteroauxin legt aber einen unmittelbaren Einfluß von Vitamin C auf die Heteroauxinaktivität nahe.

Auffällig ist auch der Unterschied zwischen den Zuwachskurven für Heteroauxin und der Kombination von Heteroauxin plus Vitamin C. Während die Kontrolle kontinuierlich steigt, fällt die Heteroauxinkurve etwa am 3. Versuchstag im Wachstum zurück und verläuft dann mehr oder weniger parallel zur Abszisse. Die Kurve der Kombination steigt dagegen weiter an. Wahrscheinlich werden die unter der Wuchsstoffeinwirkung stark wachsenden Koleoptilsegmente durch die Streckung so verändert, daß das Plasma auf weitere Heteroauxingaben nicht mehr reagieren kann. Askorbinsäure müßte dann die Reaktionsfähigkeit des Plasmas wieder herstellen können. Daß das Heteroauxinmolekül selbst durch Vitamin C beeinflußt wird, ist wohl unwahrscheinlich. Vermutlich beeinflußt die Askorbinsäure das Wuchsstoffapoferment so, daß das Holoferment aktiv sein kann.

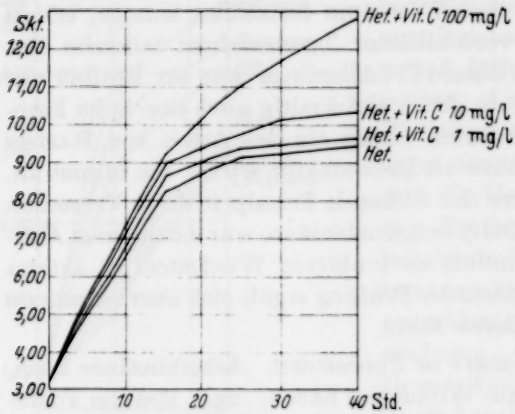


Abb. 5. Stufenweise Abnahme der Askorbinsäurewirkung bei fallenden Vitaminkonzentrationen.

Konzentrationsversuche ergaben die optimale Askorbinsäurewirksamkeit bei 80—100 mg je Liter, obwohl auch schon 1 mg je Liter das Wachstum förderte. Abb. 5 zeigt die stufenweise Abnahme der Vitaminwirkung bei kleineren Vitaminquanten. Höhere Konzentrationen kamen nicht weiter zur Anwendung, denn eine größere Vitaminmenge hätte durch ihre Säurewirkung das Zuwachsergebnis auch ohne den spezifischen Vitamineinfluß positiv verändern können. Die für einen Wirkstoff sehr hohen optimalen Konzentrationen zwingen zu der Annahme, daß der Wirkungsmechanismus der Askorbinsäure beim Wachstum ein anderer sein muß als bei den übrigen verwendeten Wirkstoffen, die schon in viel geringerer Konzentration ihre Funktion als Fermentbausteine erfüllen können.

b) Kombinationsversuche mit den Vitaminen Aneurin, Biotin, Pantothensäure, Nikotinsäureamid und den Säuren des Zitronensäurekreislaufes. Nach COMMONER und THIMANN (1941) und THIMANN (1949) sind Wachstum und Atmung in gleicher Weise durch Heteroauxin beeinflußbar. Beide Fundamentalprozesse der Zelle laufen gemeinsam ab über bestimmte Fermentsysteme im Bereich des Krebszyklus. Die C_4-Säuren als Substrate des oxydativen Abbaues können nach THIMANN und COMMONER die Heteroauxinwirkung steigern. Die Vitamine Aneurin, Biotin, Panto-

thensäure und Nikotinsäureamid sind ebenfalls als Biokatalysatoren im Zwischenstoffwechsel beteiligt. Auch sie fördern im Zylindertest. Ich nehme an, daß alle diese Wirkstoffe das Streckungswachstum der Haferkoleoptile über Stoffwechselumsetzungen beeinflussen.

Da Vitamin C im Vergleich zu anderen Wirkstoffen der Pflanze in relativ hohen Konzentrationen dargeboten werden muß, könnte es auch als Kohlenhydratquelle in den Atmungsvorgang eingeschaltet sein. Dann wäre auch eine Beeinflussung der Askorbinsäurewirkung durch die oben

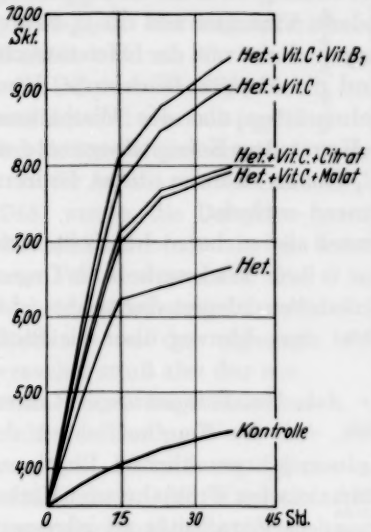


Abb. 6. Zuwachswerte beim Hafer.

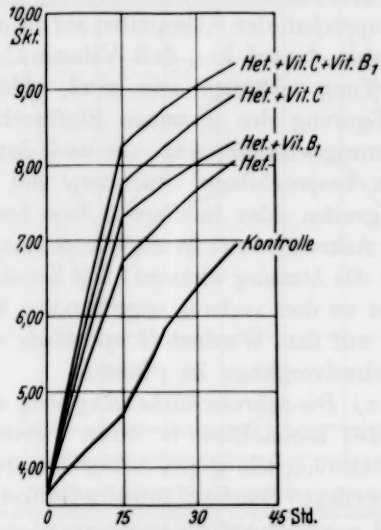


Abb. 7. Zuwachswerte beim Mais.

genannten Stoffe möglich. Gegen eine Verwendung als Atmungsmaterial spricht allerdings die Tatsache, daß die Koleoptilen schon durch die Nährlösung ausreichend mit Kohlenhydraten versorgt sind.

In Kombinationsversuchen von Heteroauxin plus Askorbinsäure mit den genannten Wirkstoffen wurde geprüft, ob eine Summierung der Einzelwirkungen festzustellen ist.

Aus Tierversuchen ist bekannt, daß Vitamin C und Aneurin sich in ihren Wirkungen unterstützen können. Auch im Zylindertest ließ sich eine Förderung der Askorbinsäurewirkung durch Aneurin gelegentlich beobachten. Der Zuwachs durch Heteroauxin plus Aneurin erfuhr durch Askorbinsäure stets eine Steigerung. Nicht so konstant dagegen ließ sich mit Aneurin auch eine Förderung über die Wachstumswirkung von Heteroauxin plus Askorbinsäure reproduzieren. Sie war aber in verschiedenen Fällen, sowohl beim Hafer als auch beim Mais vorhanden (Abb. 6 und 7).

Mit den Vitaminen Biotin, Pantothensäure und Nikotinsäureamid konnte nur in Ausnahmefällen eine Steigerung der Wachstumswirkung von Heteroauxin plus Vitamin C beobachtet werden.

Unter dem Einfluß von Succinat, Malat und Citrat in einer Konzentration von 10 mg je Liter wurde die Wirksamkeit der Askorbinsäure im Kombinationsversuch in allen beobachteten Fällen gehemmt. Das Wachstum der Heteroauxinkontrollen ließ sich dagegen durch C_4-Säuren übereinstimmend mit THIMANNS Versuchen steigern (Abb. 6).

Die Konstanz in der Askorbinsäurewirkung und das unregelmäßige Ansprechen der Koleoptilen auf die anderen Vitamine und die C_4-Säuren deuten darauf hin, daß Vitamin C unmittelbar mit der Heteroauxinwirkung verknüpft sein muß, während die übrigen Wirkstoffe durch Steigerung des gesamten Stoffwechselumsatzes und der Wachstumsatmung wirksam sind. Je nach dem Vorrat der Koleoptilsegmente an den besprochenen Vitaminen und C_4-Säuren können diese fördernd eingreifen oder indifferent bzw. hemmend wirken.

Askorbinsäure ist im Wachstumsprozeß also sicher nicht als Substrat für die Atmung wirksam. Die Konstanz in ihrer Wirksamkeit, im Gegensatz zu den anderen angewandten Wirkstoffen, deutet darauf hin, daß sie auf den Wuchsstoff spezifisch wirkt ohne Umweg über die Stoffwechselvorgänge im Plasma.

c) Die jahreszeitliche Rhythmik der Askorbinsäurewirkung. RAADTS (1948) beobachtete in ihren Versuchen, daß die Empfindlichkeit der Haferkoleoptile gegen Askorbinsäure einem jahreszeitlichen Rhythmus unterliegt. Sie fand Empfindlichkeitsmaxima im Frühjahr und Herbst und verweist auf die anscheinend vorhandene Parallelität zu jahreszeitlichen Schwankungen in der Empfindlichkeit der Koleoptilen gegenüber Heteroauxin.

Die von RAADTS beschriebenen Ergebnisse ließen sich in eigenen Versuchen teilweise reproduzieren. Durchgeführt wurden alle Versuche bei Zimmertemperatur unter weitgehend gleichbleibenden Bedingungen. Die monatlichen Durchschnittswerte der Versuche des Jahres 1950 ergaben die in Abb. 8 wiedergegebene Empfindlichkeitskurve. Die Zuwachsmittelwerte sind in Prozent der Kontrolle aufgetragen. Sie geben die positive Wirkung von Vitamin C im Februar und Anfang März und im Spätsommer an. In den Monaten März, April, Mai und Juni sinken die Zuwachswerte unter das Wachstum der Kontrolle. Die beschriebenen Schwankungen in der Aktivität der Askorbinsäure im Hafertest sind also weitgehend jahreszeitlich bedingt.

Im Kombinationsversuch kommt die günstige Wirkung von Vitamin C besonders deutlich in der jahreszeitlichen Empfindlichkeitskurve zum Ausdruck (Abb. 8). Es zeigte sich ein weitgehender Parallelverlauf zur zugehörigen Heteroauxinkurve. Auch hier lagen die Zeiten höchster

Empfindlichkeit im Frühjahr (Februar bis März) und im Spätsommer (Juli bis August). In diese Zeit fiel gleichzeitig die stärkste Förderung durch Vitamin C im Kombinationsversuch.

Ein Synergismus im Wirkungsmechanismus von Heteroauxin und Askorbinsäure muß nach diesen Resultaten im Wachstumsprozeß zweifellos vorhanden sein.

d) Die Abhängigkeit der Askorbinsäurewirkung vom p_H-Wert der Nährlösung. Die normale Form der Askorbinsäure hat ihre höchste Stabilität in dem p_H-Bereich unterhalb p_H 4 bis p_H 5. Bei steigender Alkalität wird sie sehr rasch in die Dehydroaskorbinsäure überführt und oberhalb p_H 7,5 wird sie irreversibel zerstört.

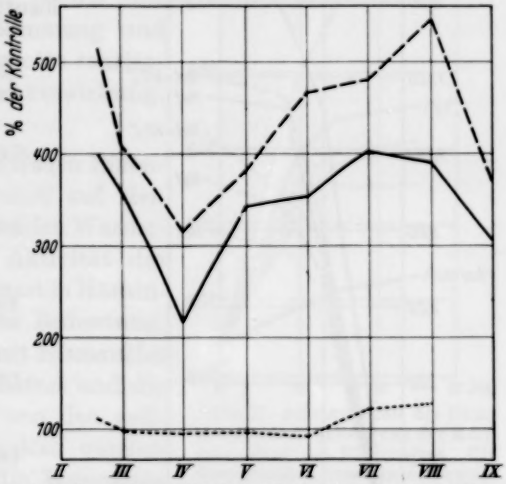


Abb. 8. Jahreszeitlicher Rhythmus der Askorbinsäurewirksamkeit. Monatliche Durchschnittswerte angegeben in Prozent der Kontrolle. ····· Vitamin C. ——— Heteroauxin. — — — Heteroauxin plus Vitamin C.

In der Arbeit von RAADTS (1948) wurde die Dehydroaskorbinsäure als wirksamer Faktor angesehen. Die Wachstumsförderung durch Vitamin C in den eigenen Versuchen muß aber der normalen Form zugeschrieben werden, da der p_H-Wert der benutzten Nährlösung die Beständigkeit der Dienolform weitgehend garantierte. Wenn demnach sowohl die Ketoform als auch die Dienolform im Wachstumsvorgang aktiv sein sollen, dann müßte die Förderung gegenüber der Heteroauxinkontrolle auch bei zunehmendem Alkalitätsgrad erhalten bleiben. Daß dies nicht der Fall ist, geht einwandfrei aus den Abb. 9 und 10 hervor.

Bis etwa p_H 6,5 kann man eine sukzessive Abnahme der Askorbinsäurewirksamkeit erkennen. Das Wachstum der Heteroauxinkontrolle bleibt allerdings noch geringer als das der Kombination. Zwischen p_H 6,5 und p_H 7,0 hört die Askorbinsäureförderung vollkommen auf und schlägt in eine Hemmung um. (Abb. 10.)

Beachtenswert ist die Wirkung eines Zusatzes von 100 mg/l $FeSO_4$ zur Kombination von 2 mg/l Heteroauxin und 100 mg/l Vitamin C bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration (Abb. 10). Bis etwa p_H 6,5 bewirkte zweiwertiges Eisen stets eine Hemmung. Mit steigender Alkalität übte $FeSO_4$ dagegen einen günstigen Einfluß auf das Wachstum aus. Wahrscheinlich schützt das Eisensalz die Askorbinsäure vor einer

Oxydation. RAADTS, die in ihren Versuchen alkalisch reagierendes Leitungswasser als Lösungsmittel benutzte, beobachtete in wenigen unveröffentlichten Einzelfällen ebenfalls eine Steigerung der Askorbinsäurewirkung durch das zweiwertige Eisenion.

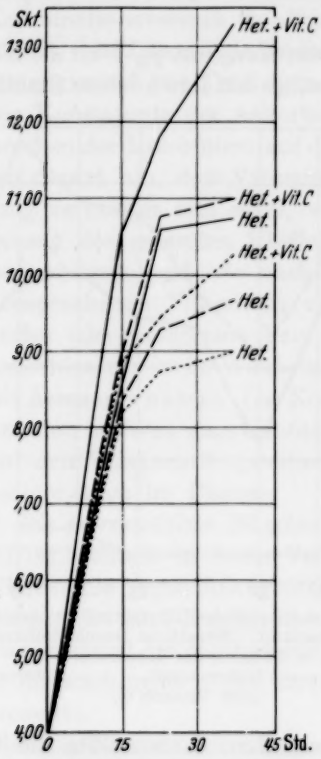


Abb. 9. Abhängigkeit der Askorbinsäureaktivität vom pH-Wert der Nährlösung. ——— pH 5,8. — — — pH 6,2. · · · pH 6,5.

Der Redoxfaktor Askorbinsäure hat sich in seiner Wirksamkeit auf das Wachstum abhängig gezeigt vom p_H-Wert der Nährlösung. Redoxvorgänge sind direkt

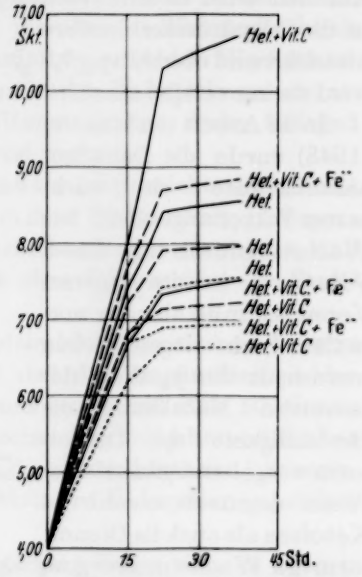


Abb. 10. Hemmung durch Vitamin C bei steigender Alkalität der Nährlösung ——— pH 6,1. — — — pH 6,8. · · · pH 7,2.

abhängig von der vorliegenden Wasserstoffionenkonzentration. Daraus läßt sich ableiten, daß die wachstumsfördernde Wirkung der Askorbinsäure mit ihren Redoxeigenschaften im Zusammenhang steht.

e) Die Wachstumswirkung von Vitamin C in Abhängigkeit von seinen Redoxeigenschaften. Das reversible System Askorbinsäure $\rightleftharpoons$ Dehydroaskorbinsäure besitzt nach den Messungen von BORSOOK und Mitarbeitern (BORSOOK, DAVENPORT, JEFFREYS und WARNER 1937) bei p_H 5,5 das sehr hohe Normalpotential $E_0 = +112$ mV. Askorbinsäure wird also sehr schnell bei Sauerstoffzutritt oxydiert zur Dehydroform. Spuren von Schwermetallen, besonders Kupfer, Mangan und Eisen

können die Dehydrierung noch beschleunigen. Der im vorigen Abschnitt beschriebene Einfluß von Eisensalzen auf die Askorbinsäurewirkung kann nur als Oxydationswirkung angesehen werden. In schwach saurer Lösung katalysiert Eisensulfat die Dehydrierung der Enolform. Mit steigendem Alkalitätsgrad flockt dann das Eisen als Oxydhydrat aus und wirkt dabei gleichzeitig als Oxydationsschutz für die Askorbinsäure. Bei abnehmender Konzentration der Eisenionen zeigte sich von p_H 5,0 bis ungefähr p_H 6,5 eine stufenweise Abnahme der Hemmung und umgekehrt über p_H 6,5 hinaus eine schrittweise Verminderung der Schutzwirkung. (Abb. 11.)

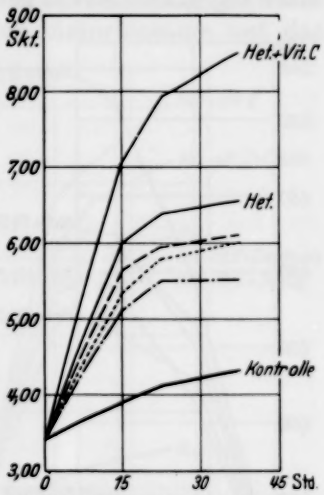


Abb. 11. Abhängigkeit der Hemmung durch $FeSO_4$ von der Konzentration des Eisensalzes. Die dargestellten Zuwachswerte wurden erhalten bei einem p_H-Wert von 5,88. – – – – 2 mg/l Heteroauxin plus 100 mg/l Vitamin C plus 10 mg/l $FeSO_4$. ····· 2 mg/l Heteroauxin plus 100 mg/l Vitamin C plus 50 mg/l $FeSO_4$. ·—·—· 2 mg/l Heteroauxin plus 100 mg/l Vitamin C plus 100 mg/l $FeSO_4$.

In der lebenden Zelle übertragen Eisenverbindungen den Luftsauerstoff auf den bei der Dissimilation freiwerdenden Wasserstoff. Für die katalytische Aktivität des Eisens ist dabei seine Bindungsart in Häminkörpern von außerordentlicher Bedeutung. Es fragte sich daher, ob der mit Eisensulfat erhaltene Effekt auf das Wachstum und die Askorbinsäurewirkung auch von den zelleigenen Häminkörpern ausgelöst werden kann. Andernfalls konnte die Hemmung auch auf eine toxische Wirkung der freien Metallionen zurückzuführen sein.

Versuche rein chemischer Art von Lemberg, Cortis-Jones und Norris (1938) bewiesen einen Oxydoreduktionsvorgang beim Zusammenwirken von Askorbinsäure und Hämatin in Pyridinlösung. Dreiwertige Eisenkomplexe reagierten sofort. Häminkörper mit zweiwertigem Eisen waren autoxydabel und reagierten später.

Im Zylindertest konnten nur wasserlösliche Häminkörper Verwendung finden. Das von Theorell (1936, 1938) dargestellte Cytochrom C besitzt diese Eigenschaft. Es wurde nach der Vorschrift von Theorell aus Herzmuskeln gewonnen. Die Wirksamkeit des häminartig gebundenen Eisens im Zylindertest in Kombination mit Vitamin C gibt Abb. 12 wieder. Der p_H-Wert der Nährlösung betrug 6,0. Die geringe Ausbeute an Cytochrom C erlaubte allerdings nur eine qualitative Prüfung des Präparates in zwei Versuchsserien. Die Wirksamkeit von anorganischen und organischen Eisenverbindungen ist demnach qualitativ

gleich. Beide Verbindungen wirken durch Valenzwechsel des Eisens oxydierend auf die Askorbinsäure. Der Unterschied besteht nur darin, daß Eisensulfat direkt mit Luftsauerstoff in Reaktion tritt. Cytochrom C dagegen gibt den Wasserstoff, der hier von Vitamin C stammt, primär über Anlagerung an die heterozyklische Doppelbindung und sekundär über Valenzwechsel des gebundenen Eisens an den Luftsauerstoff weiter (THEORELL 1943). Die Hemmung im Wachstum war also sicherlich nicht auf das zweiwertige Eisenion als solches zurückzuführen. Außerdem wirkten 100 mg/l $FeSO_4$ allein im Test mehr oder weniger indifferent. (Abb. 12.) Eisen ruft demnach indirekt über Bildung von Dehydroaskorbinsäure seine hemmende Wirkung hervor.

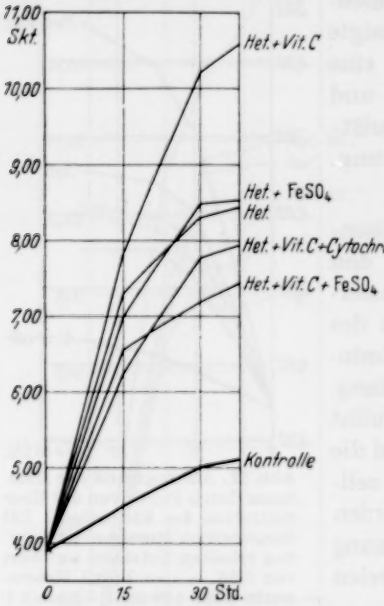


Abb. 12. Der Einfluß von organischen und anorganischen Eisenverbindungen auf die Wirksamkeit von Askorbinsäure. p_H-Wert der Nährlösung 6,0.

Da Eisenionen ganz gleich in welcher Bindungsart für die Aktivität von Vitamin C wirksam sind, besteht immerhin die Möglichkeit, auch für die Regulierung der normalen Wachstumsvorgänge derartige Umsetzungen in der Zelle anzunehmen. Für eine solche Annahme spricht besonders die Arbeit von TANG und BONNER (1947), in der ein Eisenprotein anscheinend von Häminnatur als inaktivierendes Enzym für Heteroauxin beschrieben ist. Die Inaktivierung fand nur bei Sauerstoffzutritt statt. Sie mußte daher als Oxydation aufgefaßt werden.

Ebenso wie Eisen übte Mangansulfat in einer Konzentration von 100 mg/l bei p_H 5,2 eine Wachstumshemmung aus, die sich allerdings nicht so stark auswirkte wie bei Eisensulfat.

Ein Zusatz von Cystin löste gleichfalls eine Hemmung aus. (Abb. 13.) Da die Löslichkeit von Cystin in kaltem Wasser gering ist, war bei diesen Versuchen der Betrag der Hemmung am kleinsten. Möglicherweise wirkten auch Spuren von Eisen im Cystin katalytisch, so daß die Hemmung nicht mit Sicherheit auf die Oxydationswirkung der Disulfidbindung zurückgeführt werden kann.

Daß nur die normale Form der Askorbinsäure das Wachstum der Koleoptilen fördert, beweist dann folgender Versuch eindeutig: 50 cm^3

der Vitamin C enthaltenden Nährlösung wurden mit 100 mg Tierkohle nach kurzem Umschütteln 15 min lang stehen gelassen. Durch diese Vorbehandlung war eine vollständige Oxydation der Dienolform durch die oberflächenaktive Kohle garantiert. Dann wurde von der Kohle abfiltriert und der klaren Lösung die erforderliche Menge Heteroauxinlösung zugesetzt. Die Wirksamkeit dieser Vorbehandlung geht aus Abb. 13 hervor. Der fördernde Einfluß von Askorbinsäure auf das Wachstum ist völlig aufgehoben, und es resultiert sogar eine geringe Hemmung. Es fällt besonders die Analogie zu der Eisensulfatwirkung auf. Da die oxydierende Wirkung der Tierkohle auf Schwermetallspuren, besonders Eisen, zurückzuführen ist, darf wohl für beide Hemmeffekte der gleiche Wirkungsmechanismus, also Oxydation zur Dehydroform, angenommen werden. In allen beobachteten Fällen, sowohl nach der Oxydation mit Eisensulfat als auch mit Cytochrom C, Mangansulfat und Tierkohle, wirkte Dehydroaskorbinsäure mehr oder weniger hemmend, während die normale Form das Wachstum der Haferkoleoptile förderte.

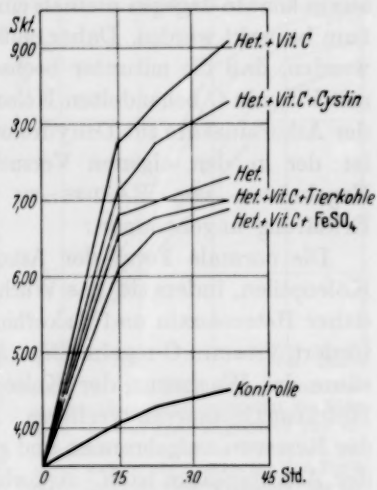


Abb. 13. Die Abhängigkeit der Askorbinsäurewirksamkeit vom Redoxpotential.

Clark (1937), der die Verteilung von oxydierter und reduzierter Form der Askorbinsäure in der Haferkoleoptile untersuchte, fand in der Spitze die Enolform in höherer Konzentration vor als in der Basis. Umgekehrt dazu war die Basis reich an der Ketoform, während die Spitze fast keine Dehydroaskorbinsäure enthielt. Da das Wachstum von der Spitze ausgeht, die Basis aber kaum noch wächst, deutet auch schon die Verteilung der beiden Formen in der intakten Koleoptile ihre gegensätzliche Wirksamkeit an.

Raadts (1948) findet im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen nur für Dehydroaskorbinsäure eine positive Wirkung auf das Wachstum. In ihren Versuchen benutzte sie stets 20 Std alte Zylinder. Die von ihr beobachtete Förderung durch Dehydroaskorbinsäure während der ersten $2^1/_2$ Std kann nur so erklärt werden, daß die Zylinder durch vorhandene Abbaustoffe zuerst noch die Ketoform reduzieren können. Sind alle reduzierenden Reserven dann aufgebraucht, erhält sie ebenfalls eine Hemmung durch Dehydroaskorbinsäure. Es wird daher angenommen, daß auch die von Raadts beobachtete positive Wirksamkeit der Dehydroaskorbinsäure auf die reduzierte Form zurückzuführen ist.

Bei den eigenen Versuchen ergaben sich mitunter ähnliche Zuwachskurven, wie sie bei RAADTS beschrieben sind. (Abb. 3.) Es wurde also anfangs eine geringe Förderung beobachtet, die später entweder völlig ausgeglichen wurde oder sogar in eine Hemmung überging. Allerdings zeigte sich die Hemmung durch Askorbinsäure im allgemeinen erst am 2. Versuchstage deutlich, also sehr viel später als bei RAADTS. Im gleichzeitig angesetzten Kombinationsversuch von Askorbinsäure mit Heteroauxin konnte dagegen niemals ein Zurückbleiben der Zylinder im Wachstum bemerkt werden. Daher muß für die eigenen Versuche angenommen werden, daß die mitunter beobachtete Wachstumshemmung der allein mit Vitamin C behandelten Koleoptilsegmente nicht auf eine Oxydation der Askorbinsäure zur Dehydroform zurückzuführen ist. Wahrscheinlich ist der in den eigenen Versuchen erhaltene Effekt nicht mit den Ergebnissen von RAADTS zu vergleichen. Es wird folgendes zur Erklärung angenommen:

Die normale Form der Askorbinsäure fördert das Wachstum der Koleoptilen, indem sie das Wuchsstoffermentsystem aktiviert. Werden daher Heteroauxin und Askorbinsäure gemeinsam im Test gegeben, so fördert Vitamin C regelmäßig. Allein angewandt begünstigt Askorbinsäure das Wachstum der Koleoptilzylinder, so lange diese noch über Heteroauxinreserven verfügen. Durch den Wachstumsprozeß werden die Reserven aufgebraucht und gleichzeitig läßt die fördernde Wirkung der Askorbinsäure nach. Askorbinsäure beeinflußt das Wachstum also nur in Anwesenheit von Heteroauxin. Sie ist auf Grund ihrer Redoxeigenschaften an der Regulierzng der Wachstumsvorgänge beteiligt. Sie fördert als Dienol und ist als Diketon Hemmstoff.

f) Der Einfluß von Vitamin C auf den Phosphathaushalt der Zelle. Der Einfluß von Vitamin C auf Serumphosphatase geht aus der Arbeit von THANNHÄUSER, REICHEL und GRATTAN (1937) hervor. Seine regulierende Wirkung auf Pflanzenphosphatasen beweisen die Versuche von VENKATA GIRI (1938). In beiden Arbeiten war nur die Enolform Aktivator bei der Phosphatspaltung. Als Diketon wirkte sie hemmend.

Daß tatsächlich eine Beeinflussung der Phosphataseaktivität durch Vitamin C vorhanden ist, zeigen auch eigene Versuche. Es wurde Preßsaft hergestellt aus verdunkelt herangezogenen Keimlingen von *Phaseolus multiflorus*. Wurzeln und Kotyledonen waren vorher entfernt worden. Ein Teil der so vorbereiteten Pflanzen wurde vorher 48 Std lang in eine Askorbinsäurelösung von 150 mg/l hineingestellt, während die übrigen in Nährlösung standen. Jeweils 5 cm^3 Preßsaft wurden mit 5 cm^3 einer Pufferlösung aus m/10 sekundärem Natriumzitrat versetzt, 1 cm^3 einer 1%igen Lösung von Natriumglyzerinphosphat zugegeben und auf 30 cm^3 aufgefüllt. Die Spaltung erfolgte bei 37° C. Das gebildete Phosphat wurde kolorimetrisch bestimmt, nachdem alles mit Trichloressigsäure

ausgeflockte Protein abfiltriert worden war. Bei der Bestimmung wurde die Methode von ARRHENIUS benutzt.

Abb. 14 gibt die Spaltungskurven für die verschiedenen Ansätze wieder. Eine Zugabe von 5 mg Askorbinsäure zum Preßsaft steigerte die Phosphataseaktivität ähnlich wie vorhergehende Tauchbehandlung der Pflanzen. Ein Zusatz von 5 mg $FeSO_4$ hemmte die Aktivität von 5 mg Vitamin C. Die Aktivierung sowohl des Wachstums (vgl. Abschnitt *e*) als auch der Phosphatasewirksamkeit durch Askorbinsäure ist demnach abhängig vom Redoxpotential. Die Versuche zeigen, daß der Wachstumseffekt der Askorbinsäure begleitet wird von einer Aktivierung der Plasmaphosphatasen.

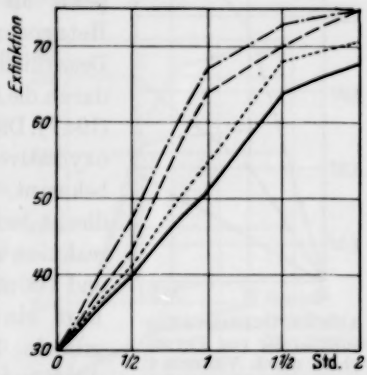


Abb. 14. Der Einfluß von Vitamin C auf die Phosphataseaktivität des Plasmas. ——— Spaltungskurve für die Kontrolle. · · · · 5 mg Vitamin C und 5 mg $FeSO_4$ als Zusatz für den Preßsaft. — — — 5 mg Vitamin C als Zusatz für den Preßsaft. ·—·—· Der Preßsaft wurde gewonnen aus Stecklingen, die 48 Std lang mit 150 mg/l Vitamin C vorbehandelt waren.

Auf Zusammenhänge zwischen Wuchsstoff und Plasmaphosphatasen wiesen auch BONNER und WILDMAN (1947) in ihrer Arbeit hin. Sie isolierten eine Cytoplasmafraktion aus Spinatblättern, die allen Plasmawuchsstoff enthielt und als einzige Fermenteigenschaft Phosphatasewirkung zeigte. Auch die fördernde Wirkung von Arginin (BONNER 1949) auf das Wachstum spricht für Beziehungen zwischen Wuchsstofferment und Phosphathaushalt der Zelle. Eventuell besitzt das Wuchsstofferment selbst Phosphataseeigenschaften.

Es wurde daher auch im Zylindertest versucht, Beziehungen zwischen der Askorbinsäurewirkung und dem Phosphathaushalt der Zelle aufzufinden. Geprüft wurde, ob ein Zusatz von Arginin auf die Wachstumsförderung von Vitamin C additiv wirkt. Die Wirksamkeit von Heteroauxin allein wurde durch Arginin in einer Konzentration von 50 mg/l in den meisten Fällen gesteigert. Eine Summierung der Wirksamkeit von Vitamin C und Arginin in Kombination mit dem Wuchsstoff konnte auch in mehreren Fällen beobachtet werden. Die Förderungen traten aber nicht regelmäßig auf. Anscheinend ist der Effekt noch von anderen Faktoren abhängig.

Askorbinsäure steigert also die Heteroauxinaktivität ebenso wie die Wirksamkeit der Plasmaphosphatasen. Wahrscheinlich sind beide Vorgänge eng miteinander verknüpft. Möglicherweise liefert die Spaltung von energiereichem Argininphosphat durch das Wuchsstoffermentsystem

die für Wachstumsvorgänge notwendige Energie. Die Beeinflussung des Wuchsstoffermentsystems durch Askorbinsäure würde damit identisch sein mit der Wirkung des Vitamins auf die Phosphatspaltung.

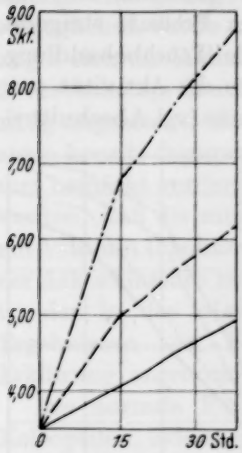


Abb. 15. Oxydative Desaminierung von Tryptophan durch Vitamin C.
——— Kontrolle.
·—·—· Heteroauxin.
— — — Vitamin C plus Tryptophan.

g) Ist Askorbinsäure an der Bildung von Heteroauxin beteiligt? Seit den Untersuchungen von THIMANN (1935) an *Rhizopus suinus* wird Tryptophan als Vorstufe für Heteroauxin angesehen. Heteroauxin geht aus Tryptophan durch oxydative Desaminierung hervor. Der Beweis wird erbracht durch die Arbeit von WILDMAN, FERRI und BONNER (1947). Die fördernde Wirkung von Vitamin C auf die oxydative Desaminierung von Aminosäuren ist bekannt. Im Zylindertest ließ sich dieser Vorgang direkt beobachten. Abb. 15 zeigt die Wachstumsreaktion nach einer Gabe von 100 mg/l Vitamin C und 100 mg/l Tryptophan. Der gezeichneten Kurve liegt ein Versuch vom 18. September 1950 zugrunde. Zweifellos war Askorbinsäure an der Bildung von Heteroauxin beteiligt. Ein Zusatz von Eisensulfat hemmte die oxydative Desaminierung ebenso wie das Wachstum. Tryptophan allein angewandt blieb mehr oder weniger wirkungslos.

Unter dem Einfluß von Eisensulfat zeigte sich Askorbinsäure bisher stets hemmend. Um so bemerkenswerter ist daher der Einfluß der Metallionen in der Kombination mit Vitamin C allein ohne Heteroauxin.

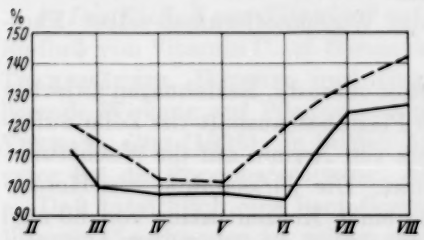


Abb. 16. Jahreszeitlicher Rhythmus für Vitamin C und Vitamin C plus Eisensulfat.
——— Vitamin C — — — Vitamin C plus $FeSO_4$.

Ein Vergleich der Kurven für 100 mg/l Askorbinsäure allein und für Vitamin C plus 100 mg/l $FeSO_4$ in ihrer jahreszeitlichen Rhythmik läßt die Förderung durch Eisensulfat deutlich erkennen. Die günstige Wirkung ist zwar nicht bedeutend, aber im allgemeinen außerhalb der Fehlergrenze. Die Kurve der Kombination verläuft weitgehend parallel zur Askorbinsäurekurve. (Abb. 16.) Mit abnehmender Konzentration der Eisenionen nimmt auch die Förderung ab. Die Testergebnisse verhielten sich also gerade entgegengesetzt zu den bisher erhaltenen Resultaten. Eine exakte Erklärung läßt sich für das veränderte Verhalten der Koleoptilen gegenüber der Wirkstoff-Eisen-Kombination bisher nicht geben. Es wird aber angenommen, daß der beschriebene

Effekt nicht mit der Wuchsstoffaktivierung im Zusammenhang steht. Wahrscheinlich wird er hervorgebracht durch Wuchsstoffneubildung. Eisenaktiviertes Vitamin C (MASCHMANN und HELMERT 1934) wirkt nämlich als Aktivator für proteolytische Fermente, z. B. für Papain. Vielleicht ist der geringe Wachstumseffekt der Kombination auf eine gesteigerte Proteasentätigkeit zurückzuführen, bei der Tryptophan in Freiheit gesetzt wird. Aus der Aminosäure würde dann durch Desaminierung Heteroauxin entstehen.

2. Der Einfluß von Laktoflavin auf das Wachstum der Haferkoleoptile.

a) Die Wirkung von Laktoflavin im Zylindertest. Laktoflavin wirkt auf das Wachstum der Koleoptilsegmente in einer Konzentration von 5 mg/l im allgemeinen hemmend. (Abb. 3 und 17.) In Kombination mit Heteroauxin kam seine Hemmstoffnatur aber erst deutlich zum Ausdruck. 5 mg/l Laktoflavin zerstörten die Wirkung von 2 mg/l Heteroauxin vollständig. Mais reagiert ebenso wie Hafer.

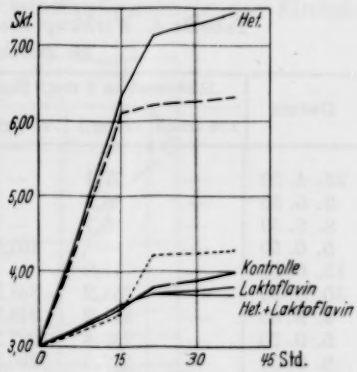


Abb. 17. Wirksamkeit von Laktoflavin im Zylindertest. - - - - Nach vorhergehender Heteroauxinbehandlung wurden die Koleoptilen nach 15 Std in Laktoflavinlösung übertragen. ····· Behandlung mit Heteroauxin erst nach einer Vorbehandlung mit Laktoflavin.

Der hemmende Einfluß von Laktoflavin auf die Wachstumswirkung von Heteroauxin konnte die Folge einer rein chemischen Umsetzung zwischen den beiden Wirkstoffen in vitro sein. Oder aber die Reaktion verlief in vivo über plasmatische Prozesse in den Koleoptilzellen. Zur Prüfung dieser Frage wurde folgende Versuchsanordnung getroffen: Eine Serie der Koleoptilsegmente wurde zu Anfang des Experiments meist einen Tag lang mit Heteroauxinlösung behandelt. Eine zweite Serie blieb dieselbe Zeit über in Laktoflavinlösung. Zur Kontrolle dienten eine einfache Nährlösung, eine Wuchsstoffkontrolle und eine Kombination von Heteroauxin plus Laktoflavin. Am 2. Versuchstage wurde mit der Behandlung getauscht. Die Serie aus der Wuchsstofflösung wurde in Laktoflavinlösung übertragen, die mit Laktoflavin vorbehandelten Zylinder kamen in Heteroauxinlösung. Abb. 17 zeigt die Ergebnisse. Eine Hemmung gegenüber der Wuchsstoffkontrolle war stets vorhanden. Besonders deutlich zeigte sich aber die Wirkung des Vitamins bei Laktoflavinvorbehandlung. Die nachfolgende Wuchsstoffeinwirkung vermochte den Hemmeffekt nicht wieder aufzuheben. Wahrscheinlich wird die physiologische Beschaffenheit der Koleoptilsegmente durch die Laktoflavinüberschwemmung so verändert, daß der

Wuchsstoff nicht mehr wirken kann. Die Hemmung muß demnach in vivo stattfinden.

Konzentrationsversuche, die zuerst Ende April bis Anfang Mai und im Juni 1950 durchgeführt wurden, und die dann im August und September 1950 wiederholt wurden, zeigten, daß der Einfluß von Laktoflavin auf die Koleoptilzylinder durchaus kein einfacher Vorgang ist. Tabelle 4 gibt einige Ergebnisse aus Einzelversuchen wieder, aus denen klar hervorgeht, daß die Hemmwirkung von Laktoflavin einmal abhängig

Tabelle 4. *Wirkung verschiedener Laktoflavinkonzentrationen zu verschiedenen Jahreszeiten.*

Datum	Heteroauxin 2 mg/l plus Laktoflavin in der Konzentration von							Heteroauxin 2 mg/l
	100 mg/l	50 mg/l	20 mg/l	5 mg/l	2 mg/l	0,5 mg/l	0,05 mg/l	
25. 4. 50	—	67,1	—	112,2	—	225,9	199,5	187,2
2. 5. 50	—	86,2	—	90,1	—	196,4	245,1	214,3
8. 5. 50	—	85,7	—	85,7	—	260,4	—	248,3
5. 6. 50	—	—	103,5	—	144,7	—	—	254,1
13. 6. 50	—	51,0	—	115,1	—	—	—	299,2
30. 8. 50	—	255,2	348,2	391,7	—	—	—	327,0
4. 9. 50	—	311,2	349,7	320,4	—	—	—	269,7
5. 9. 50	—	298,4	287,3	282,0	—	—	—	279,3
6. 9. 50	—	237,3	260,9	—	—	—	—	308,6
11. 9. 50	237,6	326,7	361,2	8,3	—	—	—	430,6
12. 9. 50	154,0	191,8	180,9	—	—	—	—	210,9
18. 9. 50	133,6	141,5	159,6	—	—	—	—	166,3
19. 9. 50	150,2	223,3	238,1	—	—	—	—	251,5

ist von der Konzentration und zum anderen von der Jahreszeit. Die Daten in der Tabelle sind angegeben als Prozente der Kontrolle. Laktoflavin kann also sowohl Inhibitor als auch Aktivator für den Wuchsstoff sein. Im Frühjahr fördern nur sehr geringe Vitaminmengen. Im Herbst beeinflussen Konzentrationen, die im Frühjahr stets hemmten, das Wachstum der Haferkoleoptilen günstig. So fördern Anfang September Konzentrationen von 20 mg/l am besten, während 50 mg/l schon deutlich schwächer wirken. Im Frühjahr und Sommer bewirken nur Konzentrationen zwischen 0,05 mg/l und 0,5 mg/l eine Förderung. Offenbar unterliegt auch die Wirksamkeit von Laktoflavin einem jahreszeitlichen Rhythmus.

b) Die jahreszeitliche Rhythmik der Laktoflavinwirkung. Die in Abb. 18 wiedergegebene Kurve stellt die monatlichen Durchschnittswerte in Prozent der Kontrolle dar für eine Laktoflavinkonzentration von 5 mg/l. Von März bis Juni rief Laktoflavin allein angewandt eine Hemmung gegenüber der Kontrolle hervor. Vom Monat Juni an erfolgte dann ein Anstieg der Kurve bis zu einer geringen Förderung gegenüber der Kontrolle.

Für den Kombinationsversuch mit Heteroauxin deckte sich der Kurvenverlauf bis Juni beinahe mit der Zuwachskurve für Laktoflavin

allein. Dann erfolgte ein steiler Anstieg. Am 23. August 1950 wurde eine Hemmung gegenüber Heteroauxin von 38,9% gemessen. Am 30. August zeigte sich zum erstenmal eine Förderung über den Heteroauxinzuwachs. Diese Förderung wiederholte sich in den drei folgenden Versuchen. Nach dem 5. September 1950 wurde dann wieder eine Hemmung gegenüber der Heteroauxinkontrolle festgestellt.

Es wurde auf verschiedenen Wegen versucht, die Ursache für das veränderte Verhalten der Koleoptilzylinder im Spätsommer aufzuklären. Da trotz Verwendung verschiedener Wirkstoffpräparate in den Einzel-

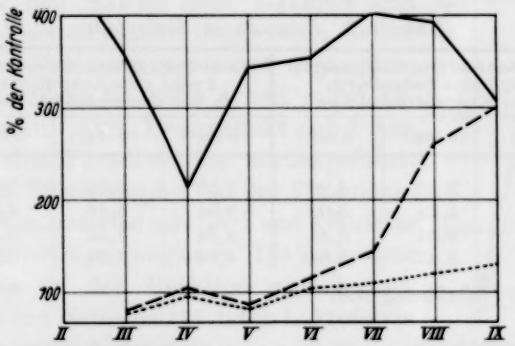


Abb. 18. Jahreszeitliche Rhythmik in der Laktoflavin wirkung. ——— Heteroauxin. — — — Heteroauxin plus Laktoflavin. · · · · Laktoflavin.

versuchen die erhaltenen Zuwachsergebnisse für die Vergleichsansätze völlig übereinstimmten, kam das verwendete Vitaminmaterial als Ursache für das veränderte Reaktionsbild nicht in Frage. Belichtungsversuche (s. Abschnitt *c*) zeigten, daß auch die Lichteinflüsse während der kurzen Herstellungszeit der Laktoflavinlösung nicht als Ursache für die veränderte Wirksamkeit des Vitamins im Spätsommer anzusehen sind. Ebenso konnte die Annahme, daß eventuell das von der vorjährigen Ernte stammende Saatgut durch abnehmende Reaktionsfähigkeit den Effekt auslöst, nicht bestätigt werden, da auch Hafersaat der neuen Ernte gleiches Verhalten zeigte. Es muß daher angenommen werden, daß die im Spätsommer einsetzende Ruheperiode der höheren Pflanze mit veränderter Stoffwechseltätigkeit die veränderte Reaktion der Koleoptilen verursacht.

c) Der Einfluß des Lichtes auf die Laktoflavinwirkung. Bei Belichtung in saurer Lösung geht Laktoflavin leicht in Lumichrom über, in Lösungen über p_H 6,0 entsteht Lumiflavin. Da die verwendeten Lösungen sorgfältig vor Belichtung geschützt wurden und der Versuch selbst vollkommen im Dunkeln ablief, kam eine Umwandlung zu Lumichrom oder Lumiflavin während des Experimentes nicht in Betracht. Belichtungs-

versuche wurden zuerst im September 1950 durchgeführt. Die Laktoflavinlösung wurde vor der Kombination mit der Heteroauxinlösung belichtet. Als Lichtquelle wurde eine Quecksilberlampe benutzt. Veranlassung zu dieser Versuchsanordnung gab die veränderte Reaktionsfähigkeit der Koleoptilen auf eine Laktoflavingabe im Spätsommer. Die in Tabelle 5 zusammengestellten Ergebnisse gelten also für eine Jahreszeit, in der Laktoflavin relativ gering hemmt. Durch den Lichteinfluß kann die Hemmwirkung gesteigert werden. Schon die geringe Belichtungsdauer von 2 min machte sich im Test bemerkbar.

Tabelle 5. *Zuwachs in Skalenteilen.*

Std	Ohne Bestrahlung Heteroauxin 2 mg/l plus Laktoflavin in der Konzentration von			2 min Bestrahlung Heteroauxin 2 mg/l plus Laktoflavin in der Konzentration von			Heteroauxin
	50 mg/l	20 mg/l	5 mg/l	50 mg/l	20 mg/l	5 mg/l	2 mg/l
15	3,76	3,80	4,20	3,58	3,62	3,83	3,92
24	4,76	4,88	5,03	3,94	4,16	4,62	5,02
36	5,25	5,34	5,44	4,34	4,52	5,15	5,88
45	5,33	5,43	5,64	4,44	4,94	5,27	6,00

p_H-Wert der Nährlösung 5,9.

d) Wirkt Laktoflavin im Zylindertest als Redoxfaktor? Als Koferment der verschiedenen Flavinproteide stellt Laktoflavin den aktiven Faktor dar für wichtige Redoxsysteme der Zelle. Nach KUHN und BOULANGER (1936) besitzt es das negative Redoxpotential $E_0 = -185$ mV.

Die Abhängigkeit der Wuchsstoffaktivität vom Redoxpotential bewiesen die Versuche mit Vitamin C. Es lag daher nahe, auch als Ursache für die Wachstumshemmung durch Laktoflavin das negative Potential des Wirkstoffes anzunehmen.

Kombinationsversuche mit Vitamin C ergaben, daß die Wachstumsförderung der Askorbinsäure durch Laktoflavin stark reduziert wird. Die in Abb. 19 wiedergegebene Hemmung hing ab von der Konzentration des Laktoflavins. Den dargestellten Ergebnissen liegt ein Versuch vom 30. August 1950 zugrunde. Die wiedergegebene Hemmwirkung wurde also in einer Jahreszeit erhalten, in der Laktoflavin am günstigsten im Test wirkt. Als Ursache der Hemmwirkung kann nur eine Oxydoreduktion angesehen werden.

Durch Nikotinsäureamid, das ebenfalls als Wasserstoffüberträger in der Zelle wirkt (WARBURG, CHRISTIAN und GRIESE 1935, KARRER und WARBURG 1936), konnte die Hemmwirkung von Laktoflavin meist verstärkt werden. Die Versuchsergebnisse zeigten, daß Laktoflavin, ähnlich wie Askorbinsäure, in den Wachstumsprozeß auf Grund seiner Redoxeigenschaften eingreift. Allerdings beeinflußt dieser Wirkstoff durch

seinen reaktionsfähigen Alloxazinring das Wuchsstoffermentsystem gerade entgegengesetzt wie Askorbinsäure. Wahrscheinlich wirkt Laktoflavin auf das Wuchsstofferment als Wasserstoffakzeptor. Sein hemmender Einfluß auf das Wachstum wäre demnach durch eine Oxydation des Wuchsstoffes zu erklären. Wie die Förderung bei sehr niedrigen Konzentrationen möglich ist, kann einstweilen nicht erklärt werden.

Der Wirkungsmechanismus von Laktoflavin wurde von GALSTON und Mitarbeitern (GALSTON 1949, GALSTON und BAKER 1949, GALSTON und HAND 1949) als Photooxydation beschrieben. Leider waren mir diese Untersuchungen erst zugänglich, nachdem die Versuche für diese Arbeit schon abgeschlossen waren. Der Hemmeffekt wird von GALSTON auf eine Photoreaktion zurückgeführt. Laktoflavin soll Photorezeptor bei der Photoinaktivierung des Wuchsstoffes sein und erst sekundär als Wasserstoffüberträger fungieren. Die Teilnahme des Sauerstoffes an der Reaktion wird betont. Die Zerstörung von Heteroauxin durch Laktoflavin wurde auch in vitro festgestellt.

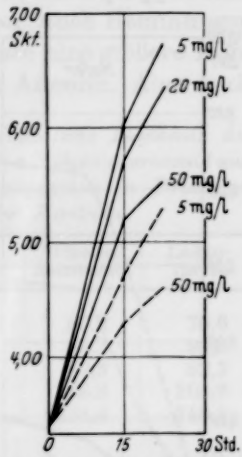


Abb. 19. Wirkung von Askorbinsäure auf die Laktoflavinaktivität. —— Kurven für die Testwerte von Heteroauxin plus Laktoflavin. - - - - Wirkungskurven für Heteroauxin plus Laktoflavin bei einem Zusatz von 100 mg/l Vitamin C. Die in der Zeichnung eingetragenen Konzentrationen beziehen sich auf die angewandten Laktoflavinkonzentrationen.

Ohne Zweifel kann die Reaktion durch Belichtung verstärkt werden (vgl. Abschnitt *c*). Aber die hemmende Wirkung von Laktoflavin auf Heteroauxin ist, wenigstens im Zylindertest, auch möglich ohne eine Lichteinwirkung. Das geht klar hervor aus den eigenen Versuchen, bei denen jeder Lichteinfluß soweit wie möglich vermieden wurde. Außerdem konnte die Hemmung auch beobachtet werden, wenn die Koleoptilen Wuchsstoff und Wirkstoff nacheinander erhielten (vgl. Abschnitt *a*). Eine direkte Wechselwirkung in vitro war bei dieser Anordnung schon von vornherein ausgeschlossen.

Es muß daher angenommen werden, daß Laktoflavin als Redoxfaktor auf den Wuchsstoff einwirkt und ihn durch Dehydrierung sowohl im Dunkeln als auch am Licht inaktiviert. Als notwendige Voraussetzung für die Wachstumshemmung im Zylindertest kann der Lichteinfluß daher nicht angesehen werden.

e) Die Teilnahme von Laktoflavin an der Bildung von Heteroauxin. Laktoflavin kann als Koferment der Aminosäureoxydasen wirken (FRANKE 1939). Der oxydative Abbau von Tryptophan zu β-Indolylessigsäure, also zu Heteroauxin, ließ sich im Zylindertest schon durch die

Einwirkung von Vitamin C beobachten. Sehr viel stärker wirkt Laktoflavin. Die oxydative Desaminierung von Tryptophan in einer Konzentration von 100 mg/l wurde konstant in jedem Versuch erhalten. Für den Effekt als solchen war die Jahreszeit belanglos. Auch in Monaten, in denen Laktoflavin stark hemmend wirkte, zeigte es in Kombination mit Tryptophan eine zum Teil bedeutende Förderung über die Kontrolle.

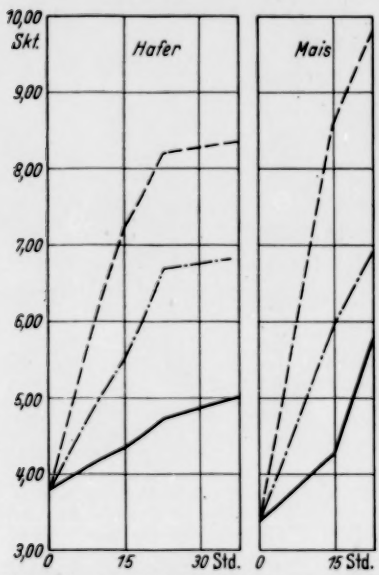


Abb. 20. Oxydative Desaminierung von Tryptophan durch Laktoflavin. ——— Kontrolle. — — — Heterauxin (2 mg/l). — · — · — Laktoflavin (5 mg/l) plus Tryptophan (100 mg/l).

Abb. 20 gibt die durchschnittlich im Zylindertest gefundenen Verhältnisse wieder. In der Mehrzahl der Versuche lag die Wirkung von Laktoflavin plus Tryptophan zwischen den Zuwachsergebnissen der Kontrolle und der Heteroauxinkontrolle. Es konnte aber in Einzelfällen durch die Kombination sogar ein größerer Zuwachs erzielt werden als mit Heteroauxin allein. Die Koleoptilzylinder von Mais reagierten in gleicher Weise.

Für den beschriebenen Wachstumstest ist damit die Mitwirkung von Laktoflavin bei der Bildung von Heteroauxin aus Tryptophan festgestellt worden.

3. Die Wirkung der Vitamine Aneurin, Nikotinsäureamid, Pantothensäure und Biotin im Zylindertest.

Im Zylindertest läßt sich die Wirksamkeit aller vier Vitamine beobachten. Leider zeigen sie aber nicht so konstant eine Förderung oder Hemmung wie Askorbinsäure oder Laktoflavin. Es war daher nur möglich, ihren Einfluß auf den Wachstumsprozeß zu untersuchen unter Verzicht auf eine feinere Analyse ihrer Wirkungsweise. Bei Berücksichtigung aller durchgeführten Versuche läßt sich folgendes für die Wirksamkeit der einzelnen Vitamine feststellen:

Aneurin. Durch eine Aneuringabe wurde im allgemeinen eine geringe Wachstumsförderung der Koleoptilen über die Kontrolle ausgelöst. In Kombination mit Heteroauxin zeigten sich dagegen größere Schwankungen in der Wirksamkeit. Sowohl eine Förderung (vgl. Abb. 3) als auch eine Hemmung der Heteroauxinaktivität wurde durch Aneurin erhalten. Die unterschiedliche Wirkung wurde auch in den schon beschriebenen Kombinationsversuchen mit Vitamin C beobachtet. Es muß daher angenommen werden, daß das Eingreifen von Aneurin in den

Wachstumsvorgang nicht über eine direkte Beeinflussung des Wuchsstoffes vor sich geht.

Biotin und Pantothensäure. Beide Wirkstoffe waren in ihrem Verhalten im Zylindertest weitgehend dem Aneurin ähnlich. Beide begünstigten allein angewandt das Wachstum der Koleoptilen schwach. Zusammen mit Heteroauxin ließ sich die Wuchsstoffwirkung in den meisten Fällen steigern. Gelegentlich wurden aber auch Hemmungen beobachtet. Es wurde für Biotin und Pantothensäure eine größere Konstanz in der fördernden Wirkung festgestellt als für Aneurin. Aber auch bei diesen beiden Wirkstoffen scheint die Wachstumsförderung nicht auf eine unmittelbare Steigerung der Wuchsstoffaktivität zurückzugehen.

Tabelle 6. *Monatliche Rhythmik der Wirksamkeit von Nikotinsäureamid und Laktoflavin, angegeben in Prozenten der Kontrolle.*

Monat	Nikotinsäureamid	Laktoflavin
März	85,2	76,6
April	89,3	96,3
Mai	80,3	82,3
Juni	88,8	103,9
Juli	134,4	110,8

Nikotinsäureamid wirkt im Kombinationsversuch mit Heteroauxin ähnlich wie die drei vorhergehenden Vitamine, teils fördernd, teils hemmend. Etwas anders als Aneurin, Biotin und Pantothensäure verhält sich Nikotinsäureamid dagegen ohne den Wuchsstoff. Die monatlichen Durchschnittswerte beweisen deutlich eine geringe Hemmwirkung des Wirkstoffes gegenüber der Kontrolle. Der Einfluß von Nikotinsäureamid läßt sich teilweise mit der Laktoflavinhemmung vergleichen. (Tabelle 6.) Auch hier geht die Hemmung im Hochsommer in eine schwache Förderung über. Nikotinsäureamid und Laktoflavin in Kombination steigerten sich oft in ihrer Wirkung gegenseitig.

Alle vier Wirkstoffe — Aneurin, Biotin, Pantothensäure und Nikotinsäureamid — sind als Koenzyme am oxydativen Kohlenhydratabbau und am Zwischenstoffwechsel beteiligt. (Annual Review 1949.) Da die Atmung für das Wachstum die Energiequelle darstellt, war eine positive Wirkung der genannten Vitamine auf das Wachstum schon von vornherein sehr wahrscheinlich. Dagegen scheint ein direkter Einfluß auf den Wuchsstoff nicht vorzuliegen. Durch Steigerung des gesamten Stoffwechselumsatzes wird sekundär durch diese Wirkstoffe auch eine gesteigerte Wirksamkeit des Wuchsstoffes erreicht. Je nach der Beschaffenheit des Plasmas und seiner Versorgung mit den Vitaminen kann die Reaktion auf eine Wirkstoffgabe größer oder kleiner ausfallen. Nur für die Wirksamkeit von Nikotinsäureamid könnte außerdem noch ein anderer Mechanismus vorliegen. In seiner Funktion als Bestandteil der Kodehydrase überträgt Nikotinsäureamid den Substratwasserstoff an das gelbe Atmungsferment. Es wäre damit in der Lage, den Wuchsstoff in der Zelle als Wasserstoffakzeptor oxydativ anzugreifen und auf

diese Weise als Wuchsstoffantagonist zu funktionieren. Über eine Wechselwirkung zwischen Heteroauxin und Nikotinsäureamid beim Wachstum von *Laktobacillus arabinosus* berichten GALSTON und HAND (1949). Heteroauxin konnte die Wirksamkeit von Nikotinsäureamid zerstören. Es müssen also direkte Wechselbeziehungen zwischen dem Wuchsstoff und Nikotinsäureamid möglich sein. Der Wirkungsmechanismus konnte aber bisher nicht geklärt werden.

D. Rückschlüsse aus den Beziehungen zwischen Heteroauxin und den wasserlöslichen Vitaminen auf den Wirkungsmechanismus des Wuchsstoffes.

Bis heute ist der Wuchsstofforschung der Wirkungsmechanismus von Heteroauxin im Wachstumsprozeß unbekannt geblieben. Sein Kofermentcharakter erscheint durch verschiedene, methodisch unterschiedliche Versuche gesichert. Aber eine spezifische Fermentreaktion, wie sie für die bekanntgewordenen Fermentsysteme typisch ist, konnte bisher für das Wuchsstofferment nicht aufgefunden werden. (BERGER und AVERY 1944.) Eine Wuchstoffeinwirkung ist allein an der lebenden Zelle auf Grund verschiedener Reaktionsbilder nachzuweisen, z. B. als Protoplasmaströmung, Änderung der Plasmapermeabilität, Streckungswachstum oder Zellteilung. Das erfaßbare Reaktionsbild ist dann aber schon von so komplexer Natur, daß eine Auflösung in die zugrunde liegenden Teilvorgänge unmöglich wird.

Durch den Einfluß der wasserlöslichen Vitamine, besonders Askorbinsäure und Laktoflavin, ist es nun gelungen, eine direkte Beeinflussung der Wuchsstoffwirkung in vivo zu erhalten, die auch Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus des Wuchsstoffes zuläßt. Es wurde gefunden, daß die Reaktionsfähigkeit des Wuchsstoffes in engster Beziehung steht zum Redoxpotential der Zelle. Das hohe Potential der Askorbinsäure förderte das Wachstum, während Laktoflavin infolge seines negativen Normalpotentials die Wuchsstoffwirkung völlig zerstörte. Der Wuchsstoff muß also unmittelbar in die Oxydoreduktionsvorgänge der Zelle eingeschaltet sein. Ist das Wuchsstofferment selbst reduziert, so begünstigt es das Wachstum. Oxydiert ist es inaktiv. Aktivierung und Inaktivierung des Wuchsstoffes werden damit direkt abhängig vom Redoxpotential der Zelle.

Als Träger der für eine Oxydoreduktion aktiven Molekülgruppen wird vor allem das Wuchsstoffapoferment angesehen. Gestützt wird die Annahme einmal durch die Versuche mit Askorbinsäure, die als Dienol aktiviert und als Diketon hemmt. Außerdem konnten THIMANN (1949) und THIMANN und BONNER (1949 und 1949) eine Wachstumshemmung erhalten mit verschiedenen spezifischen Inhibitoren für die

Sulfhydrilgruppe, z. B. mit p-Chloromercuribenzoat und organischen Arsenverbindungen. Ebenfalls hemmend wirkten Monojodessigsäure und Ringketone wie Kumarin und Protoanemonin. Das regulierende Ferment der Wachstumsprozesse muß daher ein SH-Ferment sein, das wahrscheinlich durch Askorbinsäure als seinen natürlichen Regulator aktiviert oder gehemmt wird. Die Bedeutung der elektronegativen Sulfhydrilgruppen für die Reaktionsfähigkeit von Apoenzymen geht besonders aus den Arbeiten von Barron und Singer (1945) hervor.

Mit dem Wirkungsmechanismus des Wuchsstoffermentsystems scheint eine Phosphatasewirkung eng verknüpft zu sein. Auffällig ist dabei die gleichzeitige Förderung von Wachstum und Phosphatspaltung durch Askorbinsäure als Dienol und die Hemmung als Diketon.

Durch den Vitamineinfluß ließ sich damit für den Wirkungsmechanismus des Wuchsstoffes feststellen: 1. eine Abhängigkeit in der Reaktionsfähigkeit des Wuchsstoffermentsystems von den in der Zelle ablaufenden Oxydoreduktionsvorgängen, 2. eine Beziehung des Wuchsstoffermentsystems zum Phosphathaushalt der Zelle. Es spricht vieles dafür, für das Enzym selbst Phosphataseeigenschaften anzunehmen.

IV. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Alle angewandten wasserlöslichen Vitamine konnten die Wirksamkeit des Wuchsstoffes sowohl beim meristematischen Wachstum als auch bei der Streckung teils positiv, teils negativ beeinflussen. Das Wuchsstoffermentsystem muß demnach mit einer ganzen Reihe anderer Plasmafaktoren in Reaktion treten können. Offenbar verlangt es ein planmäßiges Zusammenarbeiten aller übrigen Plasmawirkstoffe als Voraussetzung für seine wachstumsaktivierende Tätigkeit. Damit versteht sich auch die Notwendigkeit von Wuchsstoff und Zellwirkstoffen als gleichwertigen Einzelfaktoren für jede Wachstumserscheinung, ganz gleich ob Streckung oder Zellteilung, von selbst. Jeder Mangelfaktor muß sich begrenzend auf das Wachstum auswirken.

Obwohl alle angewandten Vitamine in den Wachstumsprozeß eingreifen konnten, war die Wirksamkeit der einzelnen Stoffe doch deutlich unterschiedlich. Nach ihrer Aktivität und ihrem Wirkungsmechanismus im Wachstumstest kann man sie in zwei Gruppen einteilen:

1. Vitamine, die für das Wachstum in erster Linie als Redoxsysteme wirksam sind.

In dieser Gruppe wirkte Vitamin C durch sein stark positives Redoxpotential immer fördernd. Besonders deutlich kam die Wirkung im Zylindertest zum Ausdruck. Laktoflavin rief durch das negative Normalpotential genau die entgegengesetzte Wirkung wie Askorbinsäure hervor.

Es hemmte im allgemeinen die Wuchsstoffaktivität. Die Wirksamkeit von Nikotinsäureamid war sehr viel unregelmäßiger. Aber auch hier scheint eine hemmende Beeinflussung des Wachstums auf Grund seiner Redoxeigenschaften als Bestandteil der Kodehydrase möglich. Allerdings ist im Kombinationsversuch mit Heteroauxin in den meisten Fällen eine Wachstumsförderung zu beobachten. Damit leitet Nikotinsäureamid über zur zweiten Gruppe.

2. Vitamine, die als Kofermente am Kohlenhydratabbau und am Zwischenstoffwechsel beteiligt sind und auf diesem Wege auf das Wachstum einwirken.

Es sind Nikotinsäureamid, Aneurin, Pantothensäure und Biotin. Bei diesen Wirkstoffen war eine Förderung nicht konstant zu beobachten, so daß nur eine indirekte Beeinflussung des Wachstums über einen gesteigerten Stoffwechsel in Frage kommt.

Auf Grund der Versuchsergebnisse muß angenommen werden, daß nur die Wirkstoffe der ersten Gruppe den Wuchsstoff unmittelbar beeinflussen können. Die beobachteten Wechselbeziehungen zwischen Wuchsstoff und Wirkstoffen müssen also vor allem auf Oxydoreduktionsvorgängen beruhen, d. h. das Wuchsstofferment muß selbst auf diesem Wege angreifbar sein. Als Hemmstoffe für den Wuchsstoff erwiesen sich die Wirkstoffe, die den Wuchsstoff oxydieren konnten, während eine Förderung mit einer Hydrierung des Wuchsstoffermentes verbunden scheint. Je nach dem Angebot an Substratwasserstoff in der Zelle wird der Wuchsstoff aktiviert oder inaktiviert. Möglicherweise ist auch die Förderung durch die Vitamine der zweiten Gruppe so zu verstehen, daß durch sie eine Steigerung der Atmung und damit eine Zunahme an reduzierenden Zellsubstanzen herbeigeführt wird.

Auf eine nahe Verwandtschaft zwischen aktivem und inaktivem Wuchsstoff verwiesen schon FUNKE und SÖDING (1948/49). RAADTS (1948) zeigte dann die Bedeutung des Redoxpotentials für das Wachstum. Die eigenen Versuche deuten darauf hin, daß der inaktive Wuchsstoff als oxydierte Form des aktiven anzusehen ist. Aktivierung und Inaktivierung scheinen vom Wuchsstoffapoenzym auszugehen. Die Teilnahme eines SH-Fermentes am Wachstumsprozeß wurde von THIMANN (1949) bewiesen. Nach den Ergebnissen der eigenen Versuche, besonders mit Vitamin C, bleibt nur die Annahme übrig, daß das Wuchsstoffapoferment Träger von Sulfhydrilgruppen ist. Durch Dehydrierung dieser reaktionsfähigen Gruppen wird das Wuchsstofferment inaktiviert. In der reduzierten Form fördert das Fermentsystem dagegen das Wachstum. Damit erhebt sich die Frage, ob Askorbinsäure auch als natürlicher Regulator des Wuchsstoffermentsystems wirkt. Meine Versuche weisen jedenfalls durchaus auf diese Möglichkeit hin.

Die Hemmwirkung von Laktoflavin könnte auch auf einer Oxydation des Apofermentes beruhen. Aber die Versuche von GALSTON (1949) zeigen, daß Laktoflavin auch in vitro mit dem Koferment, also mit Heteroauxin, nach einer Photoaktivierung bei Sauerstoffzutritt reagieren kann. Die Empfindlichkeit des Heteroauxinmoleküls gegen Oxydationsmittel ist bekannt. Es ist daher auch möglich, daß die Laktoflavinhemmung auf einer Oxydation des Kofermentes beruht.

Neben der Teilnahme an den Oxydoreduktionsvorgängen scheint auch eine Beziehung des Wuchsstoffermentsystems zum Phosphathaushalt der Zelle vorzuliegen. BONNER und WILDMAN (1947) fanden Phosphataseaktivität als einzige Fermentreaktion bei einer homogenen Cytoplasmafraktion aus Spinatblättern, die allein den Plasmawuchsstoff enthielt. Die Beziehung zum Phosphatstoffwechsel kommt offenbar ebenfalls zum Ausdruck in der Wirksamkeit von Arginin (BONNER 1949) für das Wachstum, das als Argininphosphat wahrscheinlich ein Energiedepot für die Zelle darstellt. Die eigenen Versuche mit Vitamin C zeigten, daß durch die Enolform dieses Wirkstoffes Wachstum und Phosphataseaktivität des Plasmas gleichzeitig aktiviert werden. Die Parallelität beider Vorgänge legt die Vermutung nahe, daß beide Zellreaktionen, nämlich die Steigerung von Wachstum und Phosphatspaltung durch Vitamin C, identisch sind. Möglicherweise besteht die Wirksamkeit des Heteroauxinfermentes in der Fähigkeit, energiereiche organische Phosphate zu spalten und damit die Energie zu liefern für die beim Wachstum stattfindenden Stoffsynthesen. Auf diese Weise würde sich auch die Abhängigkeit des Wachstums von der Atmung verstehen lassen. Die Atmung liefert durch Abbau organischer Substanz energiereiches Phosphat. Beim Wachstum wird die deponierte Energie weiter verwendet zum Aufbau. Das Wuchsstofferment kann also erst dann seine Tätigkeit voll entfalten, wenn ihm die Atmung die Vorbedingungen schafft. Nach RUGE (1947/48) ist die Wirksamkeit des Wuchsstoffes nur möglich in Geweben mit intensiver Atmung. Sind genügend Stoffreserven vorhanden, dann greift das Ferment, selbst reguliert durch die Redoxverhältnisse der Zelle, regulierend in die synthetischen Plasmaprozesse ein. Durch Mobilisierung deponierter Energie könnte das Wuchsstofferment den Impuls für mehrere gleichzeitig ablaufende Plasmasynthesen geben, die letzten Endes zum Wachstum führen. In welcher Weise die von KÖGL (1933), KÖGL, ERXLEBEN, HAAGEN-SMIT (1934), KÖGL und ERXLEBEN (1934) dargestellten Auxine a und b am Wachstum beteiligt sind, kann nicht gesagt werden.

Die dargestellten Überlegungen werden selbstverständlich nicht als gesichert angesehen. Verschiedene Punkte scheinen aber einer weiteren Prüfung wert zu sein. Aus diesem Grunde wurde auch diese hypothetische Konstruktion der Wuchsstoffwirkung entwickelt.

Die Wirksamkeit der Vitamine beschränkt sich nicht nur auf eine Beeinflussung der Wuchsstoffaktivität beim Wachstumsprozeß, sondern es wurde auch ihre Teilnahme bei der Bildung von Heteroauxin aus Tryptophan beobachtet. Koleoptilsegmente konnten im Hafertest mit Hilfe von Askorbinsäure oder Laktoflavin diese Aminosäure durch oxydative Desaminierung in Heteroauxin überführen.

Es konnte damit gezeigt werden, daß Vitamine die Bildung und Wirksamkeit des Wuchsstoffes entscheidend beeinflussen können. Ohne die Teilnahme der Plasmawirkstoffe an jedem Wachstumsvorgang, sei es nun Zellteilung oder Streckung, müßte der Wuchsstoff wirkungslos bleiben. Andererseits ermöglicht aber erst die regulierende Wirkung des Wuchsstoffes ein normales Wachstum.

Zusammenfassung.

A. Der Einfluß wasserlöslicher Vitamine auf die Wirksamkeit von Heteroauxin.

1. Für die Bildung von Adventivwurzeln.

Bei etiolierten Stecklingen von *Phaseolus multiflorus* konnte ein fördernder Einfluß von Vitaminen auf die Bildung und das Wachstum von Adventivwurzeln beobachtet werden. Am günstigsten wirkten Askorbinsäure, Aneurin und Laktoflavin im Einzelversuch und in Kombination mit Heteroauxin.

2. Für das Streckungswachstum.

Auch für die Streckung erwiesen sich alle angewandten Vitamine aktiv. Die stärkste positive Wirkung zeigte Askorbinsäure. Eine Hemmung rief Laktoflavin hervor. Die Vitamine Nikotinsäureamid, Aneurin, Pantothensäure und Biotin wirkten in Kombination mit Heteroauxin meist fördernd. Bei Einzelanwendung wurde mit Nikotinsäureamid vorwiegend eine Hemmung beobachtet. Die übrigen förderten schwach oder waren mehr oder weniger wirkungslos. Mais reagierte ebenso wie Hafer.

B. Der Wirkungsmechanismus der einzelnen Vitamine beim Wachstum der Haferkoleoptile.

1. Askorbinsäure

förderte das Wachstum der Koleoptilzylinder in Kombination mit Heteroauxin stets, am besten in einer Konzentration von 80—100 mg/l. Vitamin C wirkte nicht als Kohlenstoffquelle und auch nicht über Stoffwechselumsetzungen der Zelle, sondern unmittelbar auf das Heteroauxin.

Die Wirksamkeit der Askorbinsäure zeigte allein und in Kombination mit Heteroauxin eine jahreszeitliche Rhythmik mit einem Wirkungsmaximum im Frühjahr und im Herbst. Vitamin C wirkt auf Grund seiner Redoxeigenschaften. Die Wirksamkeit ist damit zwangsläufig abhängig von der Wasserstoffionenkonzentration der Zelle. Oxydiert wird Askorbinsäure zum Hemmstoff für das Wachstum. Vitamin C förderte die Phosphataseaktivität des Plasmas und konnte die Wirkung von Arginin plus Heteroauxin in verschiedenen Fällen steigern. Askorbinsäure konnte außerdem durch oxydative Desaminierung aus Tryptophan Heteroauxin entstehen lassen.

2. Laktoflavin

hemmte allein und besonders in Kombination mit Heteroauxin. Die Hemmung durch Laktoflavin war abhängig von Konzentration und Jahreszeit. Niedrige Konzentrationen konnten unter bestimmten Bedingungen das Wachstum auch fördern. Licht steigerte die Hemmung, die als Oxydoreduktion angesehen werden muß. Auch Laktoflavin desaminierte Tryptophan zu Heteroauxin.

3. Die Vitamine Aneurin, Nikotinsäureamid, Pantothensäure und Biotin wirkten indirekt auf das Wachstum durch Steigerung der Stoffwechselprozesse.

C. Rückschlüsse aus den Beziehungen zwischen Heteroauxin und den Vitaminen auf den Wirkungsmechanismus des Heteroauxins.

Die Wirkungsweise des Wuchsstoffermentes ist gebunden an die Redoxverhältnisse der Zelle. In der reduzierten Form ist es aktiv, oxydiert ist es inaktiv. Das Wuchsstofferment wird als SH-Ferment angesehen. Außerdem sind Beziehungen zum Phosphathaushalt der Zelle vorhanden.

Literatur.

Amlong u. Naundorf: Die Wuchshormone in der gärtnerischen Praxis. 1938. — Avery and Burkholder: Bull. Torrey bot. Club **63**, 1 (1936). — Annual Rev. of Biochem. **18** (1949). — Barron and Singer: J. of biol. Chem. **157**, 221 (1945). — Berger and Avery: Amer. J. Bot. **31**, 203 (1944). — Blank u. Frey-Wyssling: Verh. schweiz. naturforsch. Ges. Locarno **1940**, 165. — Ber. schweiz. bot. Ges. **51**, 116 (1941). — Bonner: Sci. **85**, 183 (1937). — Plant Physiology **13**, 865 (1938). — Amer. J. Bot. **36**, 323 (1949). — Bonner and Addicott: Bot. Gaz. **99**, 144 (1937). — Sci. 88, 577 (1938). — Bonner and Axtmann: Proc. nat. Acad. Sci. USA. **23**, 453 (1937). — Bonner and Bonner: Proc. nat. Acad. Sci. USA. **24**, 70 (1938). — Bonner and Greene: Bot. Gaz. **100**, 226 (1938). — Bonner, Warner and Went: Sci. **87**, 170 (1938). — Bonner and Wildman: Arch. of Biochem. **14**, 381 (1947). — Borsook, Davenport, Jeffreys and Warner: J. of biol. Chem. **117**, 237 (1937). — Burlet: Ber. schweiz. bot. Ges. **50**, 519

(1940). — Clark: Bot. Gaz. **99**, 116 (1937). — Commoner and Thimann: J. gen. Physiol. **24**, 279 (1941). — Franke: Angew. Chem. **52**, 695 (1939). — Funke u. Söding: Planta (Berl.) **36**, 341 (1948/49). — Galston: Proc. nat. Acad. Sci. USA. **35**, 15 (1949). — Galston and Baker: Amer. J. Bot. **36**, 773 (1949). — Galston and Hand: Amer. J. Bot. **36**, 85 (1949). — J. of biol. Chem. **178**, 967 (1949). — Gstirner: Chemisch-physikalische Vitaminbestimmungsmethoden. 1940. — Karrer u. Warburg: Biochem. Z. **285**, 297 (1936). — Künning: Planta (Berl.) **38**, 36 (1950). — Kuhn u. Boulanger: Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 1557 (1936). — Kögl: Angew. Chem. **46**, 469 (1933). — Kögl u. Erxleben: Z. physiol. Chem. **227**, 51 (1934). — Kögl, Erxleben u. Haagen-Smit: Z. physiol. Chem. **25**, 215 (1934). — Lange: Die kolorimetrische Analyse. Berlin 1944. — Lemberg, Cortis-Jones and Norris: Biochemic. J. **32**, 149 (1938). — Maschmann u. Helmert: Z. physiol. Chem. **224**, 56 (1934). — Moewus: Z. Naturforschg **3**b, 135 (1948). — Raadts: Planta (Berl.) **36**, 103 (1948). — Rietsema: Action and Penetration of Growth Substances. Utrecht 1950. — Roth: Angew. Chem. **52**, 149 (1939). — Ruge: Planta (Berl.) **35**, 252 (1947/48). — Schneider: Amer. J. Bot. **25**, 258 (1938). — Tang and Bonner: Arch. of Biochem. **13**, 10 (1947). — Thannhäuser, Reichel and Grattan: J. of biol. Chem. **121**, 697 (1937). — Theorell: Biochem. Z. **285**, 207 (1936); **298**, 242 (1938). — Vortrag, gehalten in der Berner chem. Ges. 1943. — Thimann: J. of biol. Chem. **109**, 279 (1935). — Biol. Bull. **96**, 296 (1949). — Thimann and Bonner: Amer. J. Bot. **36**, 214 (1949). — Proc. nat. Acad. Sci. USA. **35**, 272 (1949). — Thimann and Skoog: Sci. **92**, 64 (1940). — Amer. J. Bot. **27**, 951 (1940); **29**, 598 (1942). — Venkata Giri: Z. physiol. Chem. **254**, 126 (1938). — Warburg, Christian u. Griese: Biochem. Z. **282**, 157 (1935). — Warner and Went: Printed for the Plant Culture Publishing Co., Pasadena (Cal.). 1939. — Went: Amer. J. Bot. **26**, 505 (1939). — Went and Thimann: Phytohormones. New York 1937. — Wildmann, Ferri and Bonner: Arch. of Biochem. **13**, 131 (1947).

Fräulein Dr. Ruth Scheuermann, Hamburg 13, Oderfelderstr. 11.

Planta, Bd. 40, S. 301—312 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen.

ÜBER ERREGUNGSVORGÄNGE BEI DER EINWIRKUNG VON PHOTISCHEN UND MECHANISCHEN REIZEN AUF *COPRINUS*-FRUCHTKÖRPER.

Von

SIEGFRIED STIEFEL.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Juli 1951.)

1. Einleitung.

In der Wirkung des Lichts und der mechanischen Reize auf Pflanzen bestehen mehrere Parallelen. Beide rufen nicht nur Krümmungsbewegungen hervor, sondern beide vermögen auch das übermäßige Streckungswachstum der Achsenorgane sonst im Dunkeln aufwachsender Pflanzen zu hemmen (UMRATH 1932, BORRISS 1934, UMRATH und SOLTYS 1938, BÜNNING 1941, BÜNNING, HAAG und TIMMERMANN 1948, BÜNNING, GRÖNER und STIEFEL 1950).

Die Ähnlichkeit der formativen Wirkungen photischer und mechanischer Reize legte die Vermutung einer Gleichartigkeit der Erregungsvorgänge nahe, also die Annahme, daß die beiden verschiedenartigen Reize in den Zellen gleichartige plasmatische Vorgänge bewirken, abgesehen von den Reizaufnahmevorgängen, die selbstverständlich unterschiedlich sein müssen.

In der vorliegenden Arbeit soll die Berechtigung dieser Konsequenz an *Coprinus*-Fruchtkörpern experimentell geprüft werden, da von diesem Objekt schon bekannt ist, daß die Natur der formativen Lichtwirkung (infolge der einfacheren Ausstattung mit Pigmenten) weniger komplex ist, als bei höheren Pflanzen. Die eigentliche Aufgabe dieser Arbeit ist es also, eine bestimmte Komponente der formativen Wirkung des Lichts näher kennenzulernen. Es ist die Komponente, die auch bei höheren Pflanzen stark beteiligt ist, die offenbar (im Gegensatz zu anderen bei grünen Pflanzen beteiligten Komponenten) an die Strahlungsabsorption in gelben Pigmenten gebunden ist (vgl. BÜNNING, HAAG und TIMMERMANN), und gerade darum bei einem Pilz weniger von anderen Komponenten gestört erwartet werden konnte.

Ein Einblick in die bei der Etiolementsverhinderung an unserem Objekt beteiligten „Erregungsvorgänge" ist durch die Untersuchung GRÖNERs (vgl. BÜNNING, GRÖNER und STIEFEL) ermöglicht worden: Intermittierender Lichtreiz bedingt eine stärkere Unterdrückung des Etiolements als kontinuierlicher; diese Tatsache beweist das Eintreten

von Refraktärstadien nach den Reizungen und spricht für den Ablauf von Erregungsvorgängen im engeren Sinne, wie sie namentlich bei Untersuchungen über seismonastische Bewegungen studiert wurden. Als weiterer Schritt ist nun zu prüfen, ob für den mechanischen Reiz ähnliche Beziehungen gelten; auch hier müßte das Eintreten von Refraktärstadien aus der eventuell stärkeren formativen Wirkung intermittierender Reizung abgeleitet werden können. Zuletzt bleibt dann noch die Frage, ob das Refraktärstadium nach einem Lichtreiz auch eine herabgesetzte Erregbarkeit für den mechanischen Reiz bzw. umgekehrt bedingt; denn so müßte es sein, wenn beide Reizarten wirklich gleichartige, nicht nur durch das gemeinsame Auftreten von Refraktärstadien ähnliche Erregungsvorgänge auslösen.

Für die hier angedeutete Annahme über die Natur der Erregungsvorgänge bei photischen und mechanischen Reizen sprechen mehrere ältere Angaben.

Bereits aus Angaben von STARK (1917) geht hervor, daß die Wachstumsintensität von *Coprinus*-Fruchtkörperstielen durch Berührungsreize beeinflußt wird. BORRISS (1934) stellte bei seinen Versuchen mit *Coprinus lagopus* fest, daß bei manuellem Bestreichen der Stiele junger im Dunkeln aufgewachsener Fruchtkörper mit Strohhälmchen oder Papierstreifen sich neben der tropistischen Wirkung eine formative Beeinflussung geltend macht. BÜNNING, HAAG und TIMMERMANN (1948) zeigten, daß mechanische Reize bei etiolierten Keimlingen von *Sinapis alba* und *Vicia faba* Hemmungen des Längenwachstums bewirken. Auf Grund der stärkeren Wirkung intermittierender Reizgaben schlossen sie auf das Vorhandensein von Refraktärstadien. Wenn sich aus den Versuchen keine absoluten Refraktärstadien erkennen ließen, wie sie sonst für Erregungsvorgänge im engeren Sinne typisch sind, so sehen die Verfasser den Grund hierfür in der unterschiedlichen Reizschwelle der Einzelzellen. Bei unterschiedlicher Reizschwelle kann natürlich die Reaktion je nach der Reizintensität unterschiedlich sein, weil eine verschiedene Anzahl von Zellen reagiert. Denn ganz analog zu diesen Beobachtungen hatte sich früher schon (BÜNNING 1928) bei der Analyse der Krümmungsbewegungen von Staubgefäßen und Narben ergeben, daß die hier untersuchten Organe nicht in jedem Falle im ganzen dem Alles-oder-Nichtsgesetz folgen. Diese Erscheinung ließ sich durch die Annahme einer mehr oder weniger gut ausgeprägten Reizleitung von Zelle zu Zelle hinreichend erklären.

An *Phaseolus*gelenken wies BÜNNING (1936) nach, daß jeder Lichtreiz, der ebenso wie der Stoßreiz bei der Seismonastie einen Erregungsprozeß bedingt, ein Refraktärstadium hinterläßt. Die Versuche von BÜNNING, HAAG und TIMMERMANN lassen für die Lichtwirkung bei der Hemmung des Internodienwachstums von *Vicia faba* und *Sinapis alba* auf die Beteiligung von Erregungsvorgängen schließen. Denselben Schluß lassen die Ergebnisse über die formative Lichtwirkung an *Coprinus lagopus* zu (BÜNNING, GRÖNER und STIEFEL). Selbstverständlich muß aber bei Lichtreizen auch mit ganz andersartigen plasmatischen Veränderungen gerechnet werden. Namentlich bei höheren Pflanzen dürften etwa dann, wenn auch die langwellige Strahlung aktiv ist (BÜNNING 1941, 1948, TRUMPF, WENT, WITHROW), Prozesse ganz anderer Natur als sie die Erregungsvorgänge darstellen, beteiligt sein.

STARK (1917) und BORRISS (1934) machten die Beobachtung, daß auch erhöhte Temperatur einen formativen Effekt auf die Fruchtkörper von *Coprinus lagopus* ausübt. Während STARK den Grund für die formative Beeinflussung in der bei höherer Temperatur erhöhten Transpiration sieht, erweisen BORRISS' Versuche die Temperatur selbst als den entscheidenden morphogenen Faktor.

Für *Coprinus lagopus* sind nach Borriss mindestens drei verschiedenartige morphogene Faktoren gegeben, die alle zum selben Endergebnis führen. Wenn Primärwirkung und Reaktion durch eine Kette von Zwischengliedern voneinander getrennt sind, so müßten die ausgelösten Reaktionen an irgendeiner Stelle dieser Kette in eine gemeinsame Bahn münden.

Bei der Erregung von *Phaseolus*gelenken durch die Kombination von seismischem und photischem Reiz fand Bünning (1936), daß die Erregungsvorgänge nach beiden Reizarten gegenseitig wirksame Refraktärstadien bilden. Er zog daraus den Schluß, daß die durch Stoßreiz und die durch Lichtreiz induzierten Erregungen identisch sind.

Auf Grund der Gleichartigkeit der formativen Wirkungen nach Licht- und Schüttelreiz bei etiolierten jungen Pflanzen von *Sinapis alba* machten Bünning, Haag und Timmermann die Annahme, daß beide Reize denselben Prozeß auszulösen vermögen. Weiterhin richtungsweisend war die Tatsache, daß für beide Reizarten auf Grund der verstärkten etiolementverhindernden Wirkung intermittierender Reizgaben auf die Beteiligung von Refraktärstadien geschlossen werden konnte.

2. Methodik und Versuchsmaterial.

a) Rohkulturen.

Zur Gewinnung der Versuchsobjekte wurde frischer Pferdemist unter Glasglocken gebracht, die mit feuchtem Fließpapier ausgekleidet waren. Die Kulturen wurden ans Tageslicht gestellt.

Nach etwa 4 Tagen traten auf dem Substrat *Mucor*arten auf, nach 6—8 Tagen schossen *Pilobolus*arten ihre Sporangien ab, vom 10. Tage ab zeigten sich *Coprinus*arten.

Die Versuchsobjekte bestimmte ich nach Lindau (1911) und Thome (1911). Zum Vergleich diente für die Bestimmung von *Coprinus lagopus* außerdem die bei Schenk (1919) abgedruckte Beschreibung von A. Ricken (Die Blätterpilze Deutschlands).

Zu den Versuchen wurden zwei *Coprinus*arten verwandt: *C. fimetarius* und *C. lagopus*. *C. fimetarius* erschien deswegen besonders geeignet zu Berührungsversuchen, weil er einen verhältnismäßig kräftigen Stiel besitzt und daher versprach, durch die mechanische Inanspruchnahme weniger leicht beschädigt zu werden als der empfindlichere *C. lagopus*. Da aber die im Dunkeln gewachsenen Fruchtkörper zu wenig verschieden waren von den im Licht gewachsenen, und sich die Versuchsmittelwerte, die zwischen den genannten Extremwerten liegen mußten, nicht eindeutig gegeneinander sichern ließen, wurde später nur noch *C. lagopus* verwendet. Bei ihm war der Unterschied der im Dunkeln und der im Licht aufgewachsenen Fruchtkörper trotz der starken Schwankungen der Einzelwerte befriedigend.

b) Reinkulturen.

Als Substrat diente allgemein frischer Pferdemist, der in einem mit Zellstoff verschlossenen Erlenmeyerkolben im Autoklaven 30 min bei 100° C sterilisiert wurde. Anfänglich erprobte doppelte Sterilisation von je etwa 25 min Dauer wurde später nicht mehr durchgeführt, da ich öfters die Beobachtung machte, daß der Fruchtungsbeginn bei solchen Kulturen bis zu 2 Wochen verzögert wird (im Gegensatz zu Angaben von Voderberg (1948), die erst bei Erhitzung über 2 Std eine Fruchtungsverzögerung beobachtete).

VODERBERG (1948) gibt als Substrat für *C. lagopus* außer Pferdemist noch Nährlösung FRIES und Nährlösung BÜNNING an. Von der Verwendung dieser Kulturmedien wurde hier wegen der leichten Infektionsmöglichkeit Abstand genommen. BORRISS macht schon die Bemerkung, daß bei Verwendung anderer Kulturmedien als Pferdemist sehr leicht Infektionen durch *Mucor* oder *Penicillium* auftreten, welche die Entwicklung von *Coprinus* zu stören geeignet sind.

Der sterilisierte Pferdemist wurde unter weitgehend sterilen Bedingungen in mit Fließpapier ausgekleidete Präparatengläser (Höhe 6,5 cm, Durchmesser 2,0 cm) eingefüllt. Die Gläser wurden zuvor $1^1/_2$ Std bei 140° C im Thermostaten trocken sterilisiert.

Geimpft wurden, ausgehend von einem Exemplar, das besonders geeignet erschien, vom Hut vorher befreite, in kleine Stückchen von etwa 1,5 cm Länge zerschnittene Fruchtkörperstiele. Den Angaben von VODERBERG folgend, wurden die Reinkulturen zur Stimulation des Wachstums mit Hefeaufschwemmung begossen (10 g Bäckerhefe aufgelöst in 150 cm³ Aq. dest., je Gläschen 3 cm³ der Aufschwemmung).

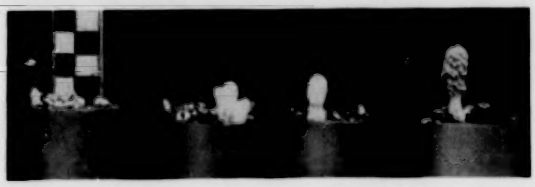


Abb. 1. *Coprinus lagopus*. Entwicklungsstadium 1—4. Fruchtkörper bei täglich 11stündiger Belichtung aufgewachsen. Maßstab: Kantenlänge eines Quadrats = $^1/_2$ cm.

Die Reinkulturen wurden nach ihrer Herstellung unter Glasglocken gebracht, die mit ständig befeuchtetem Fließpapier ausgekleidet waren. Die Kulturen wurden in den Konstanzraum des Botanischen Instituts gestellt (12 Std Licht, 12 Std Dunkelheit, Temperatur 22° C).

Nach etwa 14 Tagen zeigten sich auf dem Substrat kleine weiße Pünktchen (Anlagen der Fruchtkörper, nach BORRISS „Sternhimmelstadium" = Beginn von Stadium 1 der Fruchtkörperausbildung). In diesem Stadium wurden die Reinkulturen unter den Dunkelsturz gebracht; nach BORRISS ist hier Licht noch ohne Einfluß auf das spätere Wachstum. Im Gegensatz dazu gibt VODERBERG (1950) für *C. lagopus* an, die Fruchtkörper seien in allen Entwicklungsstadien voll lichtempfindlich. Indessen wurde von mir stets beobachtet, daß die Fruchtkörperanlagen bei meinem Material im Frühstadium noch kaum lichtempfindlich sind, denn sie ergaben nach 1—3 Tagen im Dunkeln gut etiolierte Pilze.

Der Unterschied des von mir als *C. lagopus* bestimmten Objektes von dem BORRISSschen Versuchsobjekt und die Ähnlichkeit seines *C. lagopus* mit dem von mir zu den ersten Versuchen benützten *C. fimetarius* läßt es ratsam erscheinen, hier eine Abbildung der ersten 4 Entwicklungsstadien meines *C. lagopus* einzufügen (Abb. 1).

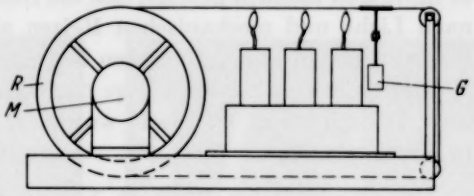
c) Methodik der Reizung.

Berührungsapparat. Zu den Versuchen mit Berührungsreizen fand der im folgenden kurz beschriebene Apparat Verwendung. Auf die Achse eines Autoscheibenwischermotors ist an Stelle des Wischgestänges ein Rad aufgesetzt, über dessen Umfang ein feines Drahtseil läuft. An dem Seil ist ein Röhrchen angebracht, in welches bei den Versuchen das die Berührung verursachende Pinselhaar oder Papierfähnchen gesteckt wurde. Zur Vermeidung von Schwingungen ist an einem Drahtstab unterhalb des Röhrchens ein Metallgewicht aufgehängt; der Drahtstab läuft außerdem entlang einer Führungsschiene. Damit ist die Gewähr gegeben, daß die Berührung der Objekte immer in derselben Höhe erfolgt (Abb. 2).

Die Hin- und Herbewegung des genannten Reizmittels wurde der früheren maschinellen Berührungsmethode mit Klinostaten vorgezogen, da hierdurch stets beide opponierenden Flanken des Versuchsobjektes gereizt werden können und somit die bei der Messung eventuell störenden thigmotropischen Krümmungen vermeiden werden.

Schüttelapparat. Als Schüttelapparatur diente die in Abb. 3 dargestellte Vorrichtung. Die Unterlage auf der die Versuchsreihen standen, bewegte sich in der Minute etwa 90mal hin und her.

Lichtquelle. Für den Lichtreiz diente eine 200 Watt Philips-Metallfadenglühlampe, die in 60 cm Höhe über dem Versuchstisch aufgehängt war. Die Lampe wurde zur Vermeidung störender Erwärmung ständig durch fließendes Wasser gekühlt.



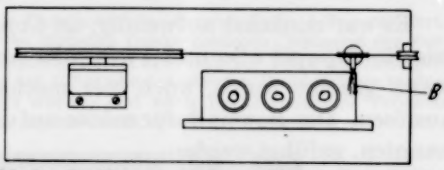


Abb. 2. Berührungsapparat. *M* Scheibenwischermotor; *R* Rad; *B* Pinselborste; *G* Gewicht.

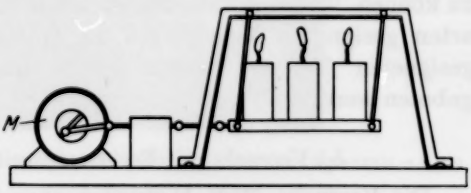


Abb. 3. Schüttelapparat. *M* Elektromotor.

Die Versuche wurden in der Dunkelkammer bei Rotlicht durchgeführt. Borriss gibt an, daß Licht mit einer Wellenlänge über 640 mμ keinerlei formativen Einfluß auf die Ausbildung der Fruchtkörper von *C. lagopus* ausübt. Die sich hieraus ergebende Bedingung für das Beobachtungslicht war zunächst durch eine ältere photographische Rotlampe erfüllt. Da aber Kohlenfadenlampen sehr stark Wärme ausstrahlen und diese eine ähnliche formative Wirkung wie Licht und mechanischer Reiz ausüben kann, wurde bei den weiteren Versuchen eine Glocke aus Massiv-Rubinglas verwendet, die über eine 40 Watt Osram-Lampe gestülpt war. Zur weitgehenden Beseitigung der Erwärmung diente als Wärmefilter die von Plotnikow beschriebene, mit Schwefelsäure angesäuerte Lösung von Mohrschem Salz.

d) Weitere Durchführung der Versuche.

Aus den unter den Dunkelsturz gestellten Reinkulturen wurden jeden Tag die gut etiolierten Fruchtkörper herausgenommen. Auf jedem Gläschen wurde im allgemeinen nur ein Fruchtkörper belassen. Daraufhin stellte ich die Gläschen in Gruppen zu je 9 in jeweils eine Versuchsleiste. Im allgemeinen wurden 2—3 Leisten für eine Versuchsreihe benützt. Um die Pilze weitgehend vor Schädigungen durch zu hohe Transpiration zu schützen, erfolgte die Belichtung unter einem übergestülpten Aquarienglas, dessen seitliche Wände und dessen Unterlage mit feuchtem Fließpapier ausgekleidet waren.

Da die empfindlichen Pilzfruchtkörper selbst durch den verhältnismäßig schwachen Berührungsreiz mit einem Schreibpapierstreifen schon sichtlich

beschädigt wurden, ist die mechanische Reizung bei den Versuchen mit *C. lagopus* nur noch durch Schütteln mit der Schüttelapparatur vorgenommen worden.

Als Vergleichsmaß für den Grad des Etiolements wurde einerseits der bei ähnlichen Arbeiten schon früher angegebene Koeffizient Stiellänge/Hutradius verwendet, andererseits sollte auch der Stieldurchmesser auf seine Eignung als Maß des Etiolementsgrades geprüft werden; es hatte sich nämlich gezeigt, daß die Stiele der etiolierten Fruchtkörper nach Licht und mechanischen Reizen sich vom Zeitpunkt der ersten Reizeinwirkung an zu verdicken begannen (Abb. 4, 5, 8, 9).

Gereizt wurde 4 oder 5 Tage nacheinander jeweils zur selben Tageszeit. Die Ablesung der Werte wurde am Tage der erstmaligen Reizung begonnen (1. Tag).

3. Versuche.

a) Versuchsdisposition.

Es war zunächst notwendig, an *Coprinus* zu untersuchen, ob ähnlich wie für *Sinapis alba* und *Vicia faba* von BÜNNING, HAAG und TIMMERMANN gezeigt wurde, auch hier mechanische Reize Erregungsprozesse auslösen. Der Beweis dafür müßte auf dieselbe Weise, wie sie die Autoren nannten, geführt werden.

Um fernerhin die Gleichartigkeit der Erregungsvorgänge nach Berührung- bzw. Schüttelreizen mit denen nach Lichtreizen feststellen zu können, war es notwendig, zuerst in Vorversuchen die für beide Reizarten geeigneten Reizmengen zu bestimmen. Daraufhin sollten die geeigneten Teilreize kontinuierlich und schließlich intermittierend geboten werden.

b) Versuche mit Berührungsreizen an C. fimetarius.

Die Versuche (Tab. 1) wurden ausgeführt von November 1949 bis Februar 1950 bei einer Raumtemperatur von 18—20° C.

Die Versuche mit *C. fimetarius* konnten auf Grund des schlechten Wachstums der Versuchsobjekte nicht weitergeführt werden. Zudem

Tabelle 1. *C. fimetarius. Etiolementsgrad (Quotient Stiellänge/Hutradius) nach der jeweils angegebenen Reizart. Ablesung am 4. Versuchstag. Mittelwerte aus je etwa 10 Einzelwerten.*

	Art der Behandlung	Etiolementsgrad mit mittlerem Fehler
1	Völlige Dunkelheit	$11{,}2 \pm 0{,}4$
2	Täglich 10mal berührt	$8{,}2 \pm 0{,}6$
3	Täglich 5mal berührt, 5 min Pause, 5mal berührt	$6{,}8 \pm 0{,}5$
4	Täglich 11Std Licht	$2{,}5 \pm 0{,}5$

erfüllten sich die Erwartungen, die auf *C. fimetarius*, der infolge seiner kräftigen Wuchsform anfangs besonders geeignet für Berührungsreize erschienen war, nicht völlig. Viele Fruchtkörper brachen bei der Umbiegung durch die berührende Pinselborste ab. Auch der Ersatz der Pinselborste durch einen Schreibpapierstreifen erwies sich als ungeeignet; die meisten Pilze zeigten durch die Berührung nach wie vor starke Schädigungen.

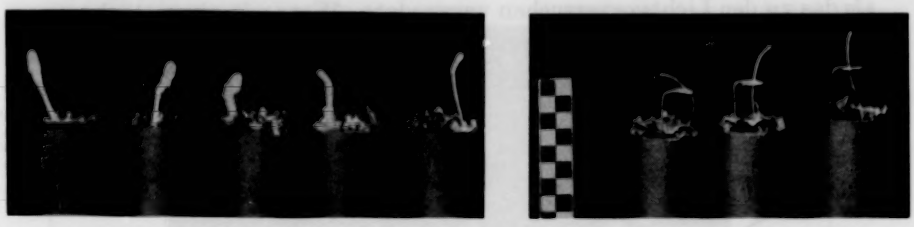


Abb. 4. *C. lagopus*. Links vom Maßstab Lichtkontrolle, Fruchtkörper 1 Tag etioliert, darauf täglich 11 Std belichtet. Rechts vom Maßstab Dunkelkontrolle; während der Zeit der Aufnahme sind die völlig im Dunkel aufgewachsenen Fruchtkörper stark geschrumpft. Aufnahme am 3. Tag nach dem Einstellen der 1 Tag alten etiolierten Fruchtkörper in den Versuch (3. Versuchstag). Die Drahtbügel wurden erst nach Beendigung des Versuchs angebracht. Maßstab: Kantenlänge eines Quadrats = $^1/_2$ cm.

Abb. 5. *C. lagopus*. Lichtkontrolle (4. Tag). Maßstab: Kantenlänge eines Quadrats = 1 cm.

Außerdem erschien es wünschenswert, zu den weiteren Versuchen ein Objekt zu suchen, das besser etiolierte als *C. fimetarius*, d. h. bei dem der absolute Unterschied zwischen den Koeffizienten der Lichtkontrollen und denen der Dunkelkontrollen größer war.

c) Versuche mit Licht- und Schüttelreizen an C. lagopus.

Die Versuche wurden ausgeführt von Mai bis August 1950 bei einer Raumtemperatur von 20—22° C. Abweichend von der bisherigen Art der Lichtkontrollen fanden von nun an bei *C. lagopus* Fruchtkörper Verwendung, die zunächst wie alle übrigen Versuchsobjekte 1 Tag im Dunkeln wuchsen und erst dann täglich 11 Std lang belichtet wurden (Abb. 4 und 5).

In Vorversuchen wurde zunächst die für die Hauptversuche geeignete Lichtquantität bestimmt. Dabei erwiesen sich 3 min Lichtgabe je Tag als relativ günstig (Abb. 6), später wurde auch mit noch geringeren

Lichtquantitäten gearbeitet. In Abb. 6 sind nicht die Wirkungen aller erprobten Lichtmengen wiedergegeben, da das zu diesen Vorversuchen verwendete Pilzmaterial sehr uneinheitlich war. Immerhin darf betont werden, daß $^1/_2$ min Licht je Tag noch einen deutlichen etiolementsverhindernden Einfluß zeigt.

Ebenfalls in Vorversuchen wurden die geeigneten Schüttelmengen identifiziert (Abb. 7). Dabei war das Material wesentlich einheitlicher als das zu den Lichtvorversuchen verwendete. Wenn mit einem stärkeren mechanischen Reiz als 30maligem Schütteln keine sichtliche Zunahme

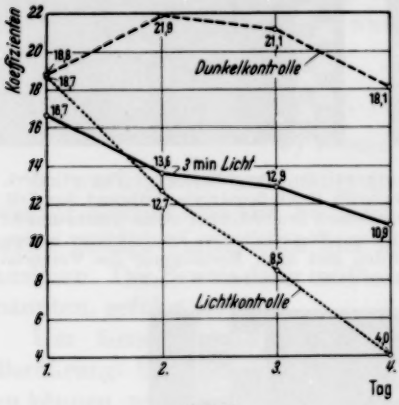


Abb. 6.

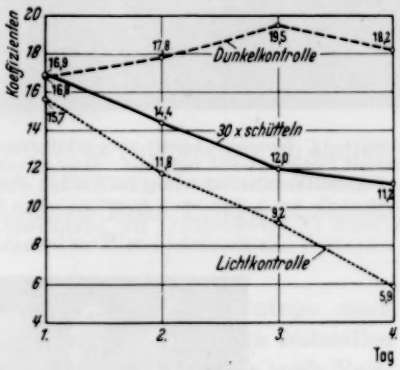


Abb. 7.

Abb. 6. *C. lagopus*. Vorversuche mit Lichtreizen. Vergleich dreier Parallelversuchsreihen: als Lichtkontrolle fanden Fruchtkörper Verwendung, die wie die anderen Versuchsobjekte 1 Tag im Dunkeln standen und daraufhin täglich 11 Std belichtet wurden. Jeder Punkt wurde als Mittelwert aus je etwa 10 Einzelwerten bestimmt. Ordinate: Koeffizienten (Stiellänge/Hutradius). Abszisse: Versuchstage.

Abb. 7. *C. lagopus*. Vorversuche mit Schüttelreizen. Zu den übrigen Angaben vergleiche Unterschrift von Abb. 6.

der Reaktionsstärke erfolgt, so darf man annehmen, daß mit 30maligem Schüttelreiz schon in allen reaktionsfähigen Zellen des Pilzfruchtkörpers eine Erregung ausgelöst wird. Wenn weiterhin bei Verwendung der doppelten oder 3fachen Reizmenge die Wirkung sogar abzunehmen schien, d. h. weniger Fruchtkörper zur Reife kamen, so kann man diese Erscheinung auf Schädigungen durch zu hohe Transpiration, die durch längeres Verweilen außerhalb des wasserdampfgesättigten Raumes bedingt werden, zurückführen.

Die endgültige Eignung der einzelnen Reizmengen konnte sich aber erst beim Studium des Zusammenwirkens von Licht- und Schüttelreizen ergeben.

Über die Versuche, die mit den weniger geeigneten Reizintensitäten und Reizmengen durchgeführt wurden, soll hier nicht berichtet werden. Ich beschränke mich auf die Wiedergabe der klareren Resultate, die mit den schließlich als geeignet befundenen Reizstärken ermittelt wurden.

Tabelle 2. *C. lagopus. Koeffizienten (Stiellänge/Hutradius). Mittelwerte aus je etwa 30 Einzelwerten.*

Reizart	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
50mal schütteln, 3 min Licht	17,0 ± 0,7	12,7 ± 0,8	9,1 ± 0,6	8,5 ± 1.5	7,6 ± 1,1
50mal schütteln, 20 min Pause, 3 min Licht	18,4 ± 1,0	9,3 ± 0,5	6,1 ± 0,6	5,8 ± 1,0	10,7 ± 1,6

Abb. 8. Fruchtkörper von *C. lagopus* am 4. Versuchstag. Die Fruchtkörper wurden 3 Tage nacheinander jeweils zur selben Tageszeit gereizt durch 50mal Schütteln und sofort anschließend 3 min Licht. Maßstab: Kantenlänge eines Quadrats = ½ cm. Die Drahtbügel wurden erst nach Beendigung des Versuches angebracht.

Abb. 9. *C. lagopus.* Fruchtkörper 3 Tage nacheinander jeweils zur selben Tageszeit gereizt durch 50mal Schütteln — 20 min Pause — 3 min Licht. Aufnahme am 4. Versuchstag. Zu den übrigen Angaben vergleiche Unterschrift von Abb. 8.

Sehr deutliche Unterschiede lassen sich aus dem Vergleich der für folgende Versuchsreihen dargestellten Mittelwerte ableiten (Tabelle 2). Die mittleren Fehler wurden allgemein nach der Formel $Fm = \pm \sqrt{\frac{\Sigma(f^2)}{n(n-1)}}$ berechnet. Aus Tabelle 2 läßt sich für den 2. und 3. Versuchstag deutlich eine verstärkte Etiolementsverhinderung bei intermittierender Reizung ableiten. Wenn die Werte vor allem am 5. Tage wieder ineinandergreifen, so wird dies bei Berücksichtigung der Entwicklungseigentümlichkeit von *Coprinus* verständlich. Die Stielstreckung am

4. und 5. Tage ist typisch für die Lichtkontrollen. So muß, wenn eine verstärkte Wirkung bei intermittierendem Reiz eintritt, auch eine Verstärkung der Stielstreckung zu beobachten sein.

In Tabelle 3 sind als weiterer Anhaltspunkt für die formative Wirkung die Mittelwerte der Stieldurchmesser beider Parallelversuchsreihen wiedergegeben.

Auch aus diesen Werten läßt sich die verstärkte Wirkung intermittierender Reizung ableiten. Wenn die Werte am 5. Tag auch hier wieder eineinandergreifen, so

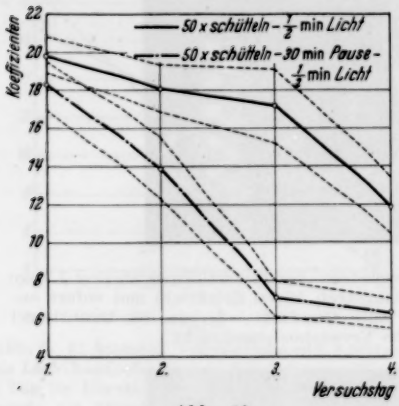


Abb. 10.

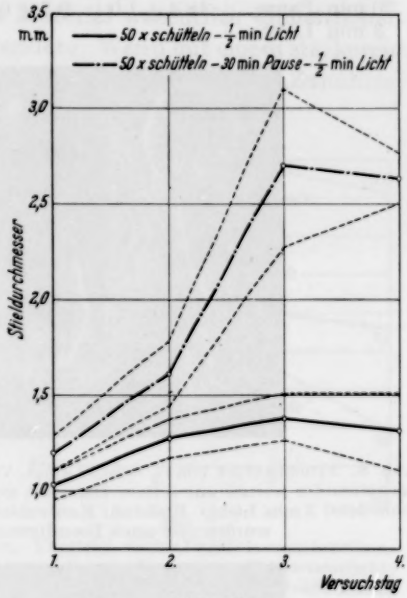


Abb. 11.

Abb. 10. *C. lagopus.* Koeffizienten (Stiellänge/Hutradius). Vergleich zweier Parallelversuchsreihen. Jeder Punkt wurde als Mittelwert aus je etwa 20 Einzelwerten bestimmt. Der einfache mittlere Fehler jedes Punktes wurde nach oben und unten abgetragen. Ordinate: Koeffizienten. Abszisse: Versuchstage.

Abb. 11. *C. lagopus.* Vergleich der Stieldurchmesser derselben Parallelversuchsreihen wie in Abb. 10. Ordinate: Stieldurchmesser in Millimeter. Abszisse: Versuchstage.

kann man dafür dieselbe Erklärung geben, wie beim Vergleich der Koeffizienten; mit stärkerer Streckung der Stiele nehmen gleichläufig die Stieldurchmesser ab.

Zur Veranschaulichung der oben in Zahlen wiedergegebenen Verhältnisse sei auf Abb. 8 und 9 verwiesen.

Tabelle 3. *C. lagopus. Stieldurchmesser in Millimeter (gemessen 2 mm unterhalb des unteren Hutrandes). Mittelwerte aus je etwa 30 Einzelwerten.*

Reizart	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
50mal schütteln, 3 min Licht	1,08 ± 0,06	1,79 ± 0,11	1,78 ± 0,14	1,88 ± 0,21	1,53 ± 0,24
50mal schütteln, 20 min Pause, 3 min Licht	0,99 ± 0,07	1,72 ± 0,16	2,51 ± 0,21	2,52 ± 0,35	1,00 ± 0,29

Noch deutlicher als in dem vorstehend wiedergegebenen Versuch lassen die in Abb. 10 und 11 dargestellten weiteren Versuchsreihen die verstärkte Wirkung intermittierender Reizung, sowohl aus den Werten der Koeffizienten als auch aus denen der Stieldurchmesser, erkennen.

4. Schlußbetrachtung.

Bei der Analyse der Wirkungen von Licht und mechanischem Reiz auf den Grad des Etiolements zeigt sich in meinen Versuchen die in der Einleitung dargelegte Anwesenheit von Refraktärstadien, welche die Beteiligung von Alles- oder -Nichtsvorgängen vermuten lassen. Damit können die von Bünning, Haag und Timmermann an höheren Pflanzen aufgefundenen Beziehungen auch für *Coprinus* bestätigt werden. Wie die genannten Verfasser aus der verstärkten Wirkung intermittierender Schüttelreize auf die Beteiligung von Refraktärstadien schlossen, so darf nunmehr auch für *C. fimetarius* der analoge Schluß gezogen werden. Auch hier lösen mechanische Reize Erregungsvorgänge im engeren Sinne aus.

Bei *C. lagopus* ergab sich, daß der Erregungsvorgang nach einem mechanischen Reiz ein Refraktärstadium hinterläßt, das auch den einem Lichtreiz folgenden Erregungsprozeß ausschließt. Die Untersuchung, ob die Erregung nach Lichtreiz auch für den Erregungsprozeß nach mechanischem Reiz ein Refraktärstadium bildet, war aus versuchstechnischen Gründen hier leider nicht möglich.

Immerhin darf man auf Grund der vorliegenden Ergebnisse auf die Identität beider Erregungsvorgänge schließen, d. h. es gibt keine spezifischen Plasmasysteme für die einzelnen Reizarten, sondern es ist vielmehr nur *ein* solches System maßgebend, auf das die beiden hier verwendeten Reizarten dieselbe Wirkung ausüben.

Die Natur dieser Erregungsvorgänge soll hier nicht weiter diskutiert werden, da meine Untersuchung hierzu keine neuen experimentellen Beiträge bringt, die über das hinausgehen, was etwa aus den Untersuchungen Umraths, Bünnings und zahlreicher anderer Autoren bekannt geworden ist.

Jedenfalls zeigen die Versuche, daß die lichtbedingte Auslösung von Erregungsvorgängen jener vor allem als Folgen mechanischer Reize bekannt gewordenen Art offenbar sowohl bei höheren als auch bei niederen Pflanzen eine wichtige Komponente der formativen Wirkung des Lichts ist. Daß aber, namentlich bei höheren Pflanzen, auch ganz andersartige Komponenten beteiligt sind, braucht kaum noch einmal betont zu werden.

Zusammenfassung.

Als Maß für die formative Wirkung von Licht- und Schüttelreizen auf die Fruchtkörper von *Coprinus* dienten sowohl die Koeffizienten Stiellänge/Hutradius als auch die Stieldurchmesser.

Intermittierende Berührungsreize wirken auf etiolierte Fruchtkörper von *C. fimetarius* stärker etiolementsverhindernd als kontinuierliche Reize. Aus dieser Erscheinung kann auf die Beteiligung von Refraktärstadien geschlossen werden.

Bei *C. lagopus* genügt noch $^1/_2$ min Lichtgabe je Tag, um eine formative Beeinflussung deutlich werden zu lassen.

Bei *C. lagopus* ließ sich nachweisen, daß die Regel der stärkeren Wirkung intermittierender Reize auch bei der Kombination von Licht- und Schüttelreizen gilt, also nicht nur, wie oben festgestellt wurde, bei ausschließlich mechanischer oder (wie GRÖNER festgestellt hatte) bei ausschließlich photischer Reizung. Am deutlichsten wurden diese Verhältnisse bei einer Kombination von 50maligem Schütteln mit $^1/_2$ min langer Belichtung. Die Wirkung dieser Reizung war nämlich erheblich stärker, wenn beide Teilreizen durch eine Pause von 30 min getrennt waren, schwächer, wenn sie unmittelbar aufeinander folgten.

Daraus kann geschlossen werden, daß die auf den mechanischen Reiz folgende Erregung von einem Refraktärstadium begleitet wird, das die Zellen auch für den darauffolgenden Lichtreiz unempfindlich macht. So wird der Schluß nahe gelegt, daß die beiden Erregungsvorgänge identisch sind, d. h. mit anderen Worten: Sowohl nach Licht- als nach mechanischem Reiz tritt dieselbe Kette von Vorgängen ein, obwohl die Reizaufnahmevorgänge natürlich unterschiedlich sind.

Herrn Prof. Dr. E. BÜNNING danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, ihm und Frl. Dr. SAGROMSKY für zahlreiche Ratschläge.

Literatur.

BORRISS, H.: Planta (Berl.) **22**, 28, 644 (1934). — BÜNNING, E.: Z. Bot. **21**, 465 (1928). — Jb. Bot. **84**, 335 (1936). — Ber. dtsch. bot. Ges. **59**, 2 (1941). — Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Heidelberg 1948. — BÜNNING, E., M. GRÖNER u. S. STIEFEL: Ber. dtsch. bot. Ges. **63**, 158 (1950). — BÜNNING, E., L. HAAG u. G. TIMMERMANN: Planta (Berl.) **36**, 178 (1948). — LINDAU, G.: Kryptogamenflora für Anfänger, Bd. 1. Höhere Pilze. Berlin 1911. — PLOTNIKOW, I.: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Teil A, H. 9. Berlin 1930. — SCHENK, E.: Beih. Bot. Cbl. **36**, 355 (1919). — STARK, P.: Jb. Bot. **57**, 189 (1917). — THOME-MIGULA, W.: Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Bd. III. Pilze. Gera 1912. — TRUMPF, CHR.: Bot. Archiv. **5**, 381 (1924). — UMRATH, K.: Jb. Bot. **75**, 609 (1932). — UMRATH, K., u. A. SOLTYS: Protoplasma (Berl.) **31**, 454 (1938). — VODERBERG, K.: Z. Naturforschg **3b**, 272 (1948). — Planta (Berl.) **37**, 612 (1950). — WENT, F. W.: Amer. J. Bot. **28**, 83 (1941). — WITHROW, R. B.: Plant Physiology **16**, 241 (1941).

Planta, Bd. 40, S. 313–332 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover.

UNTERSUCHUNGEN ZUM DÜRREEFFEKT.

I. Mitteilung.

MORPHOLOGISCHE STRUKTUR, WASSERHAUSHALT, ATMUNG UND PHOTOSYNTHESE FEUCHT UND TROCKEN GEZOGENER PFLANZEN.

Von

WILHELM SIMONIS.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. August 1951.)

A. Einleitung.

Die Arbeiten STOCKERs und seiner Schüler zur Frage des Verhaltens der Pflanzen bei Trockenheit haben unter Einbeziehung von biochemischen Untersuchungen und unter Berücksichtigung von neueren Ergebnissen über die Eigenschaften von Eiweiß und Plasma zur Aufstellung einer Theorie der Dürreresistenz (STOCKER 1948, 1949) geführt, wodurch die trotz zahlreicher Arbeiten noch recht fragmentarischen Kenntnisse über die physiologischen Ursachen des Dürreeffektes sowohl bei dem Vergleich verschiedener Sorten (genotypische Dürreresistenz) als auch bei der Adaptation einer bestimmten Sorte an verschiedene Bodenfeuchtigkeit (phänotypische Dürreresistenz) zunächst einmal zusammengefaßt wurden. Es erscheint nun aber notwendig, weiteres Material zur Untersuchung des physiologischen Verhaltens der Pflanzen bei Bodentrockenheit beizubringen, um die bisherigen Erfahrungen zu erweitern. Ausgehend von meinen Untersuchungen zur Photosynthese trocken gezogener Pflanzen (SIMONIS 1947) mußte weiter geprüft werden, ob die dort und auch die von STOCKER gefundenen Ergebnisse allgemeine physiologische Eigenschaften trocken gezogener Pflanzen darstellen, oder nur für bestimmte, bei den Untersuchungen verwendete Pflanzentypen zutreffen. Eine allgemeine Theorie der Dürreresistenz wird sich nur auf bei allen untersuchten Pflanzen gemeinsam auftretende Eigenschaften stützen dürfen, oder muß die Gründe physiologischer oder genetischer Natur anführen, warum in dem einen Fall diese, in dem anderen jene Reaktion vorherrschend ist. In der vorliegenden Arbeit werden deshalb Pflanzentypen benutzt, die sich bei der Trockenkultur morphologisch unterschiedlich verhalten, kenntlich an den gemessenen Dimensionsquotienten. Diese Pflanzen werden in Hinsicht auf ihren Blattwassergehalt, osmotischen Wert und die Viskosität, insbesondere aber auf Photosynthese und Atmung untersucht

und auf gleichartige oder unterschiedliche Reaktion bei eintretender Bodentrockenheit geprüft.

Der experimentelle Teil der Arbeit wurde größtenteils im Botanischen Institut in Tübingen ausgeführt. Herrn Professor BÜNNING bin ich für die Überlassung von Apparaturen und Räumlichkeiten sehr zu Dank verpflichtet. Ebenso danke ich der Notgemeinschaft für die zur Verfügung gestellten Geräte. Bei den Anzuchten half dankenswerterweise Fräulein STÜRNER.

B. Die Versuche.

1. Methodik.

Die Versuche wurden, abgesehen von den schon früher untersuchten *Trifolium incarnatum* und *Andromeda polifolia* in der Hauptsache an *Vicia Faba* (L.) und an *Rorippa Nasturtium aquaticum* (L.) (*Nasturtium officinale* R. BR.) in den Jahren 1946—1949 in Tübingen durchgeführt. Die Pflanzen wurden nach Aussäen in Kulturschalen bzw. nach dem Ankeimen in lasierte Vegetationsgefäße bzw. in lackierte Konservendosen (vgl. SIMONIS 1947, auch FLEISCHHAUER-BINZ) in Flußsand mit Zusatzdüngung bzw. in Gartenerde gepflanzt und bei unterschiedlichem Bodenwassergehalt im Gewächshaus angezogen. Die Zusatzdüngung für 10 kg Boden bestand aus NH_4NO_3 0,99 g; $Ca_3(PO_4)_2$ 1,16 g; $Fe_2(SO_4)_3$ 1,045 g; $MgSO_4$ 1,25 g; KCl 1,84 g; $CaSO_4$ 1,25 g. Der Bodenwassergehalt betrug in der Regel 30% (Trockenkultur) bzw. 80% (Feuchtkultur) der Wasserkapazität. Er wurde bereits einige Tage nach dem Pikieren von *Rorippa* bzw. nach dem Auflaufen der angequollenen *Vicia Faba*-Samen auf die gewünschte Höhe gebracht und dann täglich durch Wiegen kontrolliert. Die Kulturdauer betrug je nach Jahreszeit 6—8 Wochen. Gewächshaustemperaturen und Luftfeuchtigkeit konnten leider nicht konstant gehalten werden, sondern variierten mit Tages- und Jahreszeit, im Herbst mit der Beheizung des Gewächshauses.

Die Untersuchung von Atmung und Photosynthese einzelner, ausgewachsener, abgeschnittener Blätter möglichst gleichen Alters wurde manometrisch in der VAN DER PAAUWschen Apparatur wie in früheren Untersuchungen (SIMONIS 1947, 1949) vorgenommen.

Die Beleuchtungsstärke wurde während der Versuche laufend durch eine Okularphotozelle, die seitlich an der Kühlhaube der Lampe fest angebracht war, aber nur während der Ablesung belichtet wurde, sowie gleichzeitig durch ein Ampèremeter kontrolliert und durch Schiebewiderstände konstant gehalten. Belichtet wurde mit einer in einer Kühlhaube befindlichen 500 Watt Osram-Nitra-Lampe (110 V). Das Licht fiel durch einen Kondensor und nach Absorption der Wärmestrahlen durch ein gekühltes Glasfilter (BG 21) auf einen unter 45° geneigten Spiegel, der das Reaktionsgefäß im Thermostaten von oben belichtete. Die Beleuchtungsstärke am Versuchsort wurde wiederholt mit der Sperrschicht-Photozelle (Lange, Typ S 60, Durchmesser 3,8 cm) — Messung auf dem Reaktionsgefäß mit Spiegel und BG-Glas, aber ohne Wasser — gemessen und ergab Durchschnittswerte von 14500 Lux. Die Absorption durch die Wasserschicht mußte durch Vergleich der Strahlung, die durch den mit Wasser gefüllten Thermostaten horizontal hindurchtrat, mit der durch den leeren Thermostaten hindurchfallenden ermittelt werden, da keine Unterwasser-Photozelle und noch kein Aktinometer, wie es WARBURG inzwischen entwickelt hat, zur Verfügung stand. Der Weg der hier gemessenen Strahlung war mit dem Weg der durch den Spiegel reflektierten Strahlung vergleichbar. So ließ sich eine Beleuchtungsstärke von 13000 Lux (± 1000 Lux) auf dem Reaktionsgefäß errechnen. Die Beleuchtungsstärke lag

so hoch, daß durch ihre Erhöhung nur noch ein geringer weiterer Anstieg der Photosynthese eintrat. Die Versuchstemperatur wurde, wenn nicht anders angegeben, auf 17,00 ± 0,05° C gehalten.

Nach einer kurzen Einstellzeit zum Ausgleich von Temperaturdifferenzen wurde zunächst die Dunkelatmung (8 Ablesungen alle 3 min) als O_2-Aufnahme bestimmt, dann wurde belichtet, die Konstanz der Manometerausschläge abgewartet — Eintritt durchschnittlich nach 12 min — und nun die apparente Assimilation (10 Ablesungen alle 3 min) als O_2-Abgabe gemessen. Nach erneuter Verdunkelung wurden die Atmungsmessungen wiederholt. Das Mittel aus Vor- und Nachatmung wurde als der gesuchte Atmungswert angesehen. In einigen besonderen Versuchsserien wurde in gleicher Weise die Atmung allein in Dunkelversuchen bestimmt. Bei allen Versuchen wurde mit kleinen Blattflächen gearbeitet, weil bei größeren der Gasaustausch in den nicht geschüttelten Assimilationskammern der van der Paauw-Apparatur nicht rasch genug vor sich geht. Es ist nötig, daß bei der manometrischen Messung der Photosynthese einzelner Blätter oder Blattstücke im van der Paauw-Apparat nach Einschalten der Beleuchtung der Eintritt von konstanten Werten abgewartet wird. Es tritt ein Anstieg der Werte auf, von dem zunächst angenommen wurde, daß er im wesentlichen durch Öffnungsbewegungen der Spalten verursacht sei. Bei Versuchen mit spaltöffnungsfreien Blättchen von *Mnium undulatum* (Simonis 1949b) und *Helodea densa* zeigte sich aber, daß auch hier ein Anstieg bei Belichtung stattfindet, der offenbar aus den in der Kammer vorliegenden physikalischen Bedingungen resultiert. Die in der vorliegenden, ebenso wie in früheren Veröffentlichungen mitgeteilten Werte sind immer erst nach Eintritt von konstanten Verhältnissen ermittelt worden.

Die Bestimmung von Frischgewicht, Trockengewicht, Wassergehalt und Oberfläche ermöglicht die Berechnung der Dimensionsquotienten der Blätter (Stocker 1932, Müller-Stoll) und die Umrechnung von Atmung und Photosynthese auf verschiedene Bezugssysteme. Zur Messung der Spaltöffnungsweite und der Dimensionsquotienten vergleiche man die früheren Untersuchungen. Einige weitere methodische Einzelheiten folgen bei den Versuchen.

2. Einige morphologische und zellphysiologische Eigenschaften der untersuchten Pflanzen.

Zur Kennzeichnung der Feucht- und Trockenkulturen von *Vicia faba* sind in Tabelle 1 die Dimensionsquotienten und der Wassergehalt/Trockengewicht der Blätter zusammengestellt. Die Unterschiede zwischen Feucht- und Trockenkulturen sind statistisch gesichert. Wie zu erwarten, zeigt sich bei Trockenkulturen eine Verringerung des Blattwassergehaltes sowie der Oberflächenentwicklung und eine Erhöhung des Sukkulenzgrades und des Hartlaubcharakters. Daß dieses Verhalten aber nicht für alle Trockenkulturen verallgemeinert werden darf, ergibt sich bereits aus den an *Andromeda* früher gemachten Erfahrungen (Simonis 1949a). Hier ist z. B. der Wassergehalt/Trockengewicht bei den Trockenkulturen gegenüber den Feuchtkulturen sogar erhöht (vgl. unten Tabelle 7. S. 319). Auch bei anderen Pflanzen kann bei Trockenkulturen an Stelle einer xeromorphen Struktur je nach den genetischen Bedingungen Pachymorphie (Mothes 1932, Böttcher und Behling

Tabelle 1. *Vicia Faba. Dimensionsquotienten von Feucht- und Trockenkulturen.*

Serie	Anzahl der Versuche	Wassergehalt Trockengewicht %	Sukkulenzgrad Wassergehalt Fläche g/2 dm²	Hartlaubcharakter Trockengewicht Fläche g/2 dm²	Oberflächenentwicklung Fläche Frischgewicht 2 dm²/g	Versuchsbeginn
			Feuchtkultur.			
F 18 A	4	*1058*	1,15	0,109	*0,82*	8. 9. 48
F 18 B	4	*986*	0,88	0,090	*1,03*	8. 9. 48
F 19	3	*1077*	0,98	0,091	*0,95*	15. 9. 48
F 20	6	*796*	1,07	0,137	*0,83*	26. 10. 48
Mittel aus 17 Einzelwerten		*952*	1,03	0,111	*0,90*	
			Trockenkultur.			
T 18 A	4	839	*1,21*	*0,144*	0,74	8. 9. 48
T 18 B	4	887	*1,09*	*0,123*	0,82	8. 9. 48
T 19	3	830	*1,00*	*0,121*	0,90	15. 9. 48
T 20	6	646	*1,21*	*0,188*	0,71	26. 10. 48
Mittel aus 17 Einzelwerten		781	*1,15*	*0,151*	0,78	
Statistische Sicherung[1]	$t = 4{,}6$		2,68	3,3	3,34	
	$P = < 0{,}0002$		0,0027	0,0005	0,0005	

[1] Zur Berechnung der statistischen Sicherung vgl. PÄTAU.

Tabelle 2. *Rorippa Nasturtium aquaticum. Dimensionsquotienten von Feucht- und Trockenkulturen.*

Serie	Anzahl der Versuche	Wassergehalt Trockengewicht %	Sukkulenzgrad Wassergehalt Fläche g/2 dm²	Hartlaubcharakter Trockengewicht Fläche g/2 dm²	Oberflächenentwicklung Fläche Frischgewicht 2 dm²/g	Versuchsbeginn
			Feuchtkultur.			
F 6	10	393	0,66	*0,168*	*1,23*	7. 8. 46
F 7	15	502	0,80	*0,182*	*0,95*	8. 3. 47
F 13	8	809	0,93	*0,118*	*0,96*	20. 10. 47
F 14	6	655	0,94	*0,142*	*0,93*	23. 3. 48
F 15	4	473	0,73	*0,156*	*1,12*	3. 48
Mittel aus 43 Einzelwerten		552	0,80	*0,159*	*1,03*	
			Trockenkultur.			
T 6	10	*897*	*1,12*	0,134	0,82	7. 8. 46
T 7	15	*639*	*0,95*	0,152	0,91	8. 3. 47
T 13	8	*957*	*1,12*	0,115	0,84	20. 10. 47
T 14	6	*952*	*1,24*	0,129	0,73	23. 3. 48
T 15	4	*906*	*0,97*	0,109	0,96	3. 48
Mittel aus 43 Einzelwerten		*827*	*1,06*	0,134	0,86	
Statistische Sicherung	$t = 7{,}3$		7,2	3,7	6,13	
	$P = < 0{,}0002$		$< 0{,}0002$	0,002	$< 0{,}0002$	

1940) oder Sukkulenz bzw. eine Mischung dieser verschiedenen Strukturtypen auftreten. Zum Vergleich mit den Modifikationen von *Vicia Faba* erwies sich für meine Untersuchungen *Rorippa Nasturtium aquaticum* (vgl. Tabelle 2) als besonders geeignet. Hier ist ebenso wie bei *Andromeda* bei den Trockenkulturen der Wassergehalt/Trockengewicht bedeutend erhöht, dagegen aber der Hartlaubcharakter erniedrigt, Sukkulenzgrad und Oberflächenentwicklung jedoch in gleicher Richtung wie bei *Vicia Faba* verändert. In einigen wenigen Versuchsserien von *Rorippa* und *Vicia*, auf die unten noch genauer einzugehen ist, wurden Abweichungen von dem geschilderten Verhalten festgestellt.

Tabelle 3. *Osmotischer Wert in Atmosphären bei Feucht- und Trockenkulturen.*

	Feuchtkultur	Trockenkultur
Vicia Faba	10,2	16,5
Rorippa Nasturtium aquaticum.	19,0	10,2
	12,7	14,9
Trifolium incarnatum[1] .	9,4	10,3
	9,2	10,0

[1] Werte kryoskopisch bestimmt.

Gleichzeitig mit der Untersuchung dieser morphologischen Verhältnisse wurden bei einigen Versuchsserien von *Rorippa* und *Vicia* der osmotische Wert (grenzplasmolytisch) und die Plasmaviskosität nach der Plasmolyseform- und Zeitmethode bestimmt (Weber, Schmidt). Bei der letzteren wurde die „Halbwertzeit" bestimmt, nach der 50% der plasmolysierten Zellen abgerundet waren. Die Schnitte (Blattflächenschnitte der Blattoberseite) der Feucht- und Trockenkulturen wurden dabei wegen ihres vorher festgestellten verschiedenen osmotischen Wertes zur Vermeidung eines unterschiedlichen hypertonischen Gradienten in geeignet abgestufte Rohrzuckerlösungen gebracht (vgl. Schmidt).

Tabelle 4. *Plasmaviskosität von Rorippa. Plasmolysemethode, 50% der Zellen abgerundet* (Minuten).

Serie	Anzahl der Bestimmungen	Feuchtkultur	Trockenkultur
+N	6	106,2	208,3
−N	5	141,6	231,6
Mittel[1]	11	122,3	218,9

[1] Für F:T: $t = 3{,}86$; $P = 0{,}0030$; $m = 10$.

Es zeigt sich, daß bei den Trockenkulturen von *Rorippa* trotz des höheren Wassergehaltes sowohl der osmotische Wert (Tabelle 3) als auch die Plasmaviskosität (Tabelle 4) erhöht ist.

Die Messungen der Viskosität von *Rorippa* wurden an zwei Serien vorgenommen, die bei verschiedenem Wasser- und Stickstoffgehalt angezogen worden waren. Bei Stickstoffmangel ist die Viskosität noch zusätzlich erhöht (vgl. ähnliche Ergebnisse von Gessner). Vergleichende Messungen der Plasmaviskosität bei *Vicia* ergaben auch hier für die Blätter der Trockenpflanzen höhere Werte. Die

„Halbwertszeit"betrug bei den Feuchtpflanzen 41 min, bei den Trockenpflanzen 69 min.

Zusammenfassend läßt sich also sagen: Bei der Anzucht unter Wassermangel erwiesen sich *Vicia Faba* und *Rorippa* als verschiedene Reaktionstypen, deren Unterschiede vor allem den Wassergehalt und die je Blattfläche gebildete Trockensubstanzmenge, ferner aber auch die anatomische Struktur betreffen. Bei *Vicia Faba* treten deutlich xeromorphe, bei *Rorippa* pachymorphe bis sukkulente Reaktionsmerkmale auf. Darüber hinaus sind aber auch bezeichnende gleichartige Modifikationen vorhanden: Einerseits morphologisch die Erhöhung des Sukkulenzgrades sowie eine Verringerung der Oberflächenentwicklung, andererseits physiologisch der gleichartige Anstieg des osmotischen Wertes und der Plasmaviskosität. Es war nun zu prüfen, ob sich weitere physiologische Eigenschaften, besonders Photosynthese und Atmung, bei beiden Reaktionstypen gleich oder verschieden verhalten.

3. Photosynthese von Trockenkulturen bei verschiedenen Reaktionstypen.

Als Ausgangspunkt zur Besprechung der gefundenen Photosynthesewerte kann eine Versuchsserie von *Vicia Faba* (Tabelle 5) mit morphologisch guten Unterschieden dienen (vgl. Serie 20 in Tabelle 1). Es ergaben sich die gleichen Unterschiede, die schon früher an *Trifolium incarnatum* und *Andromeda polifolia* (SIMONIS 1947, 1949a) beobachtet

Tabelle 5. *Vicia Faba. Photosynthese von Feucht- und Trockenkulturen.* Ausgestanzte Blattausschnitte gleicher Blattfläche aus dem apikalen Teil gleichaltriger Primärblätter (3,26 cm²). Versuchstemperatur: 17° C. Serie 20: Oktober 1948.

	Versuchszahl	Assimilation / Trockengewicht mg CO_2/g · h	Assimilation / Fläche mg CO_2/dm² h	Assimilation / Wassergehalt mg CO_2/g · h
Feuchtkultur	6	63,3	18,5	8,75
Trockenkultur	6	68,9	25,0	10,71
Statistische Sicherung . . .	$t=$	1,12	15,1	4,2
	$P=$	$>0,05$	$<0,0002$	0,008

Tabelle 6. *Rorippa Nasturtium aquaticum. Photosynthese von Feucht- und Trockenkulturen.* Versuchstemperatur 17° C. Serie 7+14. März bzw. Oktober 1947. Mittlere Blattfläche der Feuchtpflanzen: 3,5 cm². Mittlere Blattfläche der Trockenpflanzen: 3,1 cm².

	Versuchszahl	Assimilation / Trockengewicht mg CO_2/g · h	Assimilation / Fläche mg CO_2/dm² h	Assimilation / Wassergehalt mg CO_2/g · h
Feuchtkultur	15	61,4	20,6	12,1
Trockenkultur	15	91,8	25,7	12,1
Statistische Sicherung . . .	$t=$	6,04	3,07	0,78
	$P=$	$<0,0002$	0,009	$>0,05$

worden waren: Trockenkulturen besitzen, auch bei Verwendung verschiedener Bezugssysteme, eine höhere Assimilation. Beim Trockengewicht als Bezugsgröße sind die Unterschiede bei der nicht sehr großen Zahl von Versuchen allerdings nicht mehr gesichert.

Diese Ergebnisse lassen sich bei der morphologisch anders ausgebildeten *Rorippa* durchaus bestätigen (Tabelle 6).

Trotz des höheren Wassergehaltes/Trockengewicht und des verringerten Trockengewichts/Blattfläche (vgl. Tabellen 2 und 7) ist bei den Trockenkulturen von *Rorippa* die Assimilation/Blattfläche und ebenfalls die Assimilation/Trockengewicht deutlich erhöht. Diese Unterschiede sind in bezug auf das Trockengewicht als statistisch gut gesichert und in bezug auf die Blattfläche auch noch als statistisch gesichert anzusehen. Wird die Photosynthese von *Rorippa* allerdings auf den Blattwassergehalt bezogen, so treten hier wegen des hohen Wassergehaltes der Blätter der Trockenpflanzen zwischen Feucht- und Trockenkulturen keine Unterschiede mehr auf.

In Tabelle 7 wurden die bisher an verschiedenen Pflanzentypen bei unterschiedlicher Anzucht festgestellten Photosynthesewerte zusammengestellt. Trotz der bereits aus den Dimensionsquotienten zu ersehenden erheblich unterschiedlichen morphologischen Reaktion der untersuchten Pflanzen auf die Bodentrockenheit ist in allen verglichenen Fällen die Assimilation/Blattfläche und ebenso die Assimilation/Trockengewicht bei den Trockenkulturen erhöht. Demnach ist also die

Tabelle 7. *Photosynthese und Dimensionsquotienten feucht und trocken gezogener Pflanzen.*

	Versuchspflanzen	Serie	Assimilation/Blattfläche F	Assimilation/Blattfläche T	Assimilation/Trockengewicht F	Assimilation/Trockengewicht T	Wassergehalt/Trockengewicht F	Wassergehalt/Trockengewicht T	Wassergehalt/Blattfläche F	Wassergehalt/Blattfläche T	Trockengewicht/Blattfläche F	Trockengewicht/Blattfläche T	Blattfläche/Frischgewicht F	Blattfläche/Frischgewicht T
1	*Trifolium incarnatum*	1 (Bl. 2+3)	18,9	*24,4*	89,9[1]	*93,8*[1]	*485*	380	0,50	0,49	0,106	*0,130*	*1,64*	1,60
2	*Vicia Faba*	20	18,5	*25,0*	63,3	*68,9*	*796*	646	1,07	*1,21*	0,137	*0,188*	*0,83*	0,71
3	*Rorippa Nasturtium aquaticum*	7+14	20,6	*25,7*	61,4	*91,8*	519	*764*	0,87	*1,06*	*0,177*	0,141	*0,95*	0,84
4	*Andromeda polifolia*	3+8	16,4	*22,2*	16,0	*21,2*	152	*157*	0,77	*0,82*	0,51	*0,53*	*0,79*	0,73

[1] In meiner Arbeit 1947 wurde in der dortigen Tabelle 6 der experimentell gefundene Mittelwert für Assimilation/Trockengewicht zur Umrechnung auf mg CO_2/g · h versehentlich nicht richtig multipliziert.

erhöhte Photosynthese nach den bisherigen Ergebnissen ein recht verbreitetes Merkmal von Trockenkulturen.

4. Der Einfluß von Blattwassergehalt, Blatttrockengewicht und Dimensionsquotienten auf die Photosynthese.

In der Literatur wurde wiederholt auf einen Zusammenhang von Photosynthese und Blattwassergehalt hingewiesen (zur Diskussion dieser Frage vgl. SIMONIS 1947). Bei diesen Angaben handelt es sich meistens entweder um Versuche an höheren Pflanzen mit einer schnellen Ab-

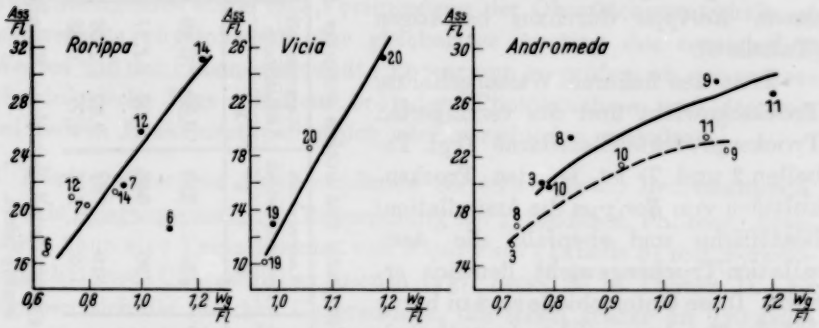


Abb. 1. Die Abhängigkeit der Assimilation (Assimilation/Blattfläche) vom Sukkulenzgrad (Wassergehalt/Blattfläche) vergleichbarer Blätter feucht und trocken gezogener Pflanzen von *Rorippa*, *Vicia* und *Andromeda*. Mittelwerte der untersuchten Versuchsserien. Feuchtpflanzen ○; Trockenpflanzen ●.

nahme des Blattwassergehaltes bis zum Welken und dadurch bedingtem Spaltenschluß, der dann auch die Photosynthese einschränkt, oder — bei niederen Pflanzen, vor allem Moosen und Flechten — um eine relativ schnelle Wasseraufnahme oder -abgabe durch Quellung und Entquellung, die zur Steigerung oder Verminderung der Photosynthese führt. Hier fragt es sich aber, ob eine mit strukturellen Veränderungen verbundene Verschiebung des Blattwassergehaltes von gleichsinnigen Änderungen der Photosynthese begleitet ist.

Werden die Mittelwerte der Assimilation der einzelnen zu verschiedenen Zeiten und daher bei verschiedener Witterung angezogenen Serien in Abhängigkeit vom Wassergehalt, jeweils auf die Blattfläche bezogen, dargestellt, wobei die wechselnde Witterung zusätzlich zum verschiedenen Bodenwassergehalt strukturelle Veränderungen und auch solche des Wassergehaltes hervorgerufen hat, so zeigt sich (Abb. 1), daß mit steigendem Wassergehalt/Blattfläche, also mit steigendem Sukkulenzgrad, die Photosynthese bei *Rorippa*, *Vicia* und *Andromeda* in gleicher Weise ansteigt. Die Werte ordnen sich im allgemeinen ohne Rücksicht auf Feucht- und Trockenkulturen recht gut in *eine* ansteigende Linie

Tabelle 8. *Trifolium incarnatum. Photosynthese und Sukkulenzgrad der Blätter von Feucht- und Trockenkulturen.*

Blatt Nr.	Anzahl der Versuche	Wassergehalt / Blattfläche		Assimilation / Blattfläche	
		F	T	F	T
1[1]	6	0,47	0,45	16,8	*23,1*
2	6	0,49	0,48	18,9	*24,7*
3	6	0,52	0,51	18,9	*24,1*
4	6	0,53	0,55	19,8	19,9

[1] Blatt 1: das oberste, benutzte, ausgewachsene Blatt. Blatt 4 ist noch bei gleichem Bodenwassergehalt in beiden Serien angelegt worden. Sonst vgl. Tabelle 7.

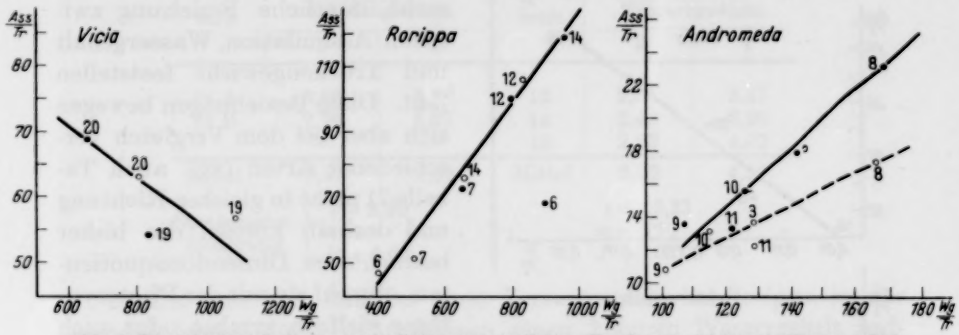


Abb. 2. Die Abhängigkeit der Assimilation (Assimilation/Trockengewicht) vom Wassergehalt (Wassergehalt/Trockengewicht) vergleichbarer Blätter von *Rorippa*, *Vicia* und *Andromeda*. (Im übrigen vgl. Abb. 1.)

ein. Eine Ausnahme bildet *Rorippa* Serie 6 T mit relativ niedriger Assimilation, wofür eine Ursache nicht leicht anzugeben ist. Bei den Werten von *Andromeda* zeigt sich zudem, daß hier offenbar Feucht- und Trockenkulturen zu trennen sind: die Photosynthese der Trockenkulturen liegt über der für die Feuchtpflanzen.

Die aufgezeigte Beziehung von Photosynthese/Fläche zu Wassergehalt/Fläche gilt für den Inkarnatklee jedoch nicht: Der Sukkulenzgrad vom Inkarnatklee änderte sich bei Trocken- und Feuchtkultur bei großer Veränderung der Photosynthese nur in relativ sehr engen Grenzen (Tabelle 8). Bei zwei weiteren Inkarnatklee-Serien betrugen die Werte für den Sukkulenzgrad: 0,64 (F), 0,64 (T) bzw. 0,55 (F), 0,58 (T). Mittelwerte aus 14 (15) bzw. 15 (18) Einzelwerten.

Wird die Assimilation/Trockengewicht zum Wassergehalt/Trockengewicht in Beziehung gesetzt, so ist zwar bei *Rorippa* und *Andromeda* mit steigendem Wassergehalt ein Anstieg der Photosynthese vorhanden. Bei *Vicia* dagegen sinkt die Photosynthese mit steigendem Wassergehalt/Trockengewicht (Abb. 2).

Ähnliches gilt für die Beziehung von der Photosynthese/Fläche zum Trockengewicht/Fläche (Abb. 3). *Vicia* und *Andromeda* besitzen mit steigendem Trockengewicht/Blattfläche ansteigende Photosynthesewerte; *Rorippa* verhält sich gerade umgekehrt.

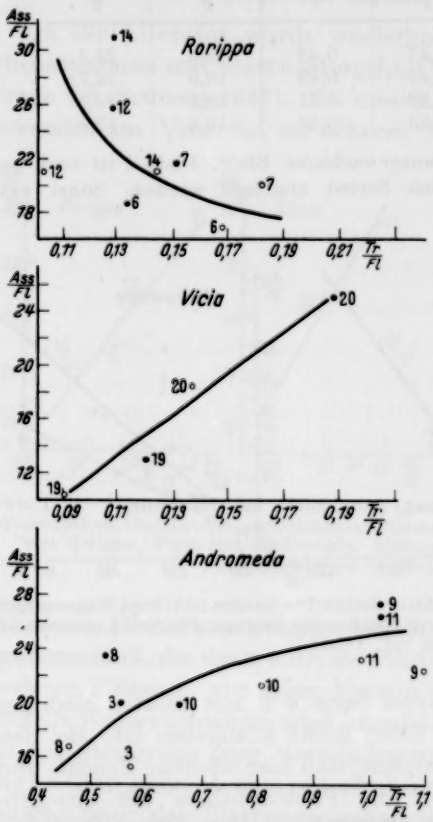


Abb. 3. Die Abhängigkeit der Assimilation (Assimilation/Blattfläche) vom Hartlaubcharakter (Trockengewicht/Blattfläche) vergleichbarer Blätter von *Rorippa*, *Vicia* und *Andromeda*. (Im übrigen vgl. Abb. 1.)

Hieraus ergibt sich zunächst, daß die Wahl des Bezugssystems für die Auswertung der Ergebnisse wesentlich ist. Ferner zeigt sich aber vor allem, daß sich zwar bei der Untersuchung *einer* Pflanzenart vielfach, aber durchaus nicht immer (Inkarnatklee!) eine recht deutliche Beziehung zwischen Assimilation, Wassergehalt und Trockengewicht feststellen läßt. Diese Beziehungen bewegen sich aber bei dem Vergleich verschiedener Arten (vgl. auch Tabelle 7) nicht in gleicher Richtung und deshalb können die bisher betrachteten Dimensionsquotienten, obwohl sie mit der Photosynthese vielfach symbat oder auch antibat verlaufen, nicht unmittelbar in Zusammenhang mit der Photosynthese stehen. Es ergibt sich aber noch die Frage, ob jeglicher Zusammenhang der Photosynthese mit den Dimensionsquotienten fehlt. Vergleicht man daraufhin die noch nicht besprochene Oberflächenentwicklung (Blattfläche/Frischgewicht) mit den Assimilationswerten (Tabelle 7), so sieht man, daß bei den untersuchten Trockenkulturen die Oberflächenentwicklung der Blätter überall reduziert ist. Verringerte Oberflächenentwicklung und erhöhte Photosynthese gehen also immer parallel. Ob diese Korrelation in einem ursächlichen Zusammenhang steht, ist weiter zu prüfen. Eine weitere durchgängige Beziehung der Photosynthese zu den Dimensionsquotienten ließ sich aber nicht feststellen.

5. Die Atmung von Feucht- und Trockenkulturen.

Zur Untersuchung der Atmung von Trocken- und Feuchtserien von *Vicia* und *Rorippa* wurden ebenfalls abgeschnittene Blätter verwendet.

wobei zur Erhöhung der Manometerausschläge etwas mehr Blattmaterial (etwa die dreifache Blattfläche) als bei der Photosynthese in die Reaktionsgefäße gebracht wurde. Die Versuchstemperatur betrug zunächst 17,0°. Bei den in Tabelle 9 angegebenen Versuchen zeigte sich, daß die Atmung (Atmung/Trockengewicht) bei den Trockenkulturen von *Vicia*. entsprechend den Untersuchungen von KRAFT (1944) (vgl. auch STOCKER 1948) an Getreide, erniedrigt, dagegen bei *Rorippa* umgekehrt erhöht wurde. Trockenkulturen verschiedener Arten verhalten sich also in bezug auf die Atmung im Gegensatz zur Photosynthese nicht einheitlich.

Tabelle 9. *Atmung bei Feucht- und Trockenkulturen von Vicia und Rorippa.*

Vicia			*Rorippa*		
Serie	Atmung / Trockengewicht		Serie	Atmung / Trockengewicht	
	F	T		F	T
18 A	3,86	3,26	13	2,67	3,47
18 B	2,26	2,07	14	3,43	6,20
	—	—	15	2,63	4,02
Mittel	*2,97*	2,59	Mittel	2,92	*4,50*
Statistische Sicherung	$t = 2{,}20$ $m = 8$ $P = 0{,}06$			$t = 3{,}23$ $m = 17$ $P = 0{,}006$	

Es fiel nun auf, daß bei einer Versuchsserie von *Rorippa*, in der ausnahmsweise die Feuchtpflanzen einen höheren Wassergehalt aufzuweisen hatten als die Trockenpflanzen, die Atmungswerte, ganz in gleicher Weise wie bei *Vicia*, bei den Trockenpflanzen erniedrigt waren (vgl. Tabelle 10). Die Abweichungen im Wassergehalt waren übrigens wahrscheinlich durch die besonderen Anzuchtbedingungen, zu geringe Luftfeuchtigkeit bei hohen Sommertemperaturen, bedingt und nur bei dieser einzigen Serie aufgetreten. Auf Grund dieses gelegentlichen Befundes und in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Tabelle 9 lag die Annahme nahe, daß die Atmung im Gegensatz zur Photosynthese von Faktoren beeinflußt wird, die in den Dimensionsquotienten unmittelbar ihren Ausdruck finden.

Tabelle 10. *Atmung und Dimensionsquotienten von Rorippa* (11. 7. 48, Serie 15 A).

Anzuchtbedingungen	Wassergehalt / Trockengewicht	Trockengewicht / Fläche	Wassergehalt / Fläche	Atmung / Trockengewicht	Anzahl der Versuche
F	1163	0,095	1,09	4,64	4
T	1006	0,110	1,10	3,86	4

6. Atmung und Blattwassergehalt.

Werden die Atmungswerte auf die Blattfläche bezogen und zum Wassergehalt/Blattfläche in Beziehung gesetzt, so zeigt sich mit steigendem

Wassergehalt eine deutliche Tendenz zur Steigerung der Atmung (vgl. Abb. 4, *Vicia*-Atmungswerte). Auch der Vergleich der Serien-Mittelwerte der Feucht- und Trockenkulturen bei *Vicia* und bei *Rorippa* (Tabelle 11) ergibt fast einheitlich, daß bei erhöhtem Wassergehalt (Wassergehalt/Trockengewicht und Wassergehalt/Blattfläche; Versuchstemperatur 17°) die Atmung erhöht ist, ohne Rücksicht darauf, ob der erhöhte Blattwassergehalt bei einer Trocken- oder Feuchtkultur auftritt. Die Abhängigkeit der Atmung vom Blattwassergehalt erweist sich damit bedeutungsvoller als die Bindung der Atmung an die vorherigen Anzuchtbedingungen. Es sind nur 2 Ausnahmen aufgetreten: Serie *Vicia* 20 (Atmung/Trockengewicht) sowie *Rorippa* Serie 15 (Atmung/Blattfläche). Die oben bereits besprochene Serie 15 A von *Rorippa* ordnet sich in diesen Zusammenhang gut ein. Auf die beiden Ausnahme-Serien wird gleich zurückzukommen sein.

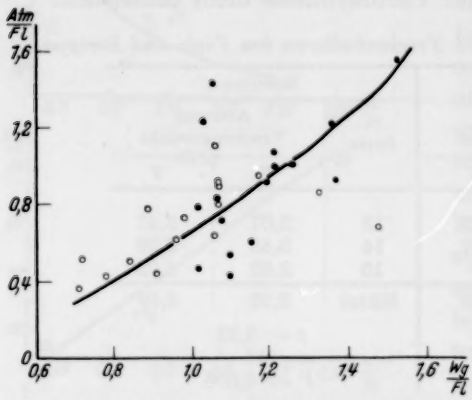


Abb. 4. Atmung (Atmung/Blattfläche) und Sukkulenzgrad (Wassergehalt/Blattfläche) vergleichbarer Blätter von feucht und trocken gezogenen Pflanzen von *Vicia Faba*. Einzelwerte Feuchtpflanzen ○; Trockenpflanzen ●.

Bei einer solchen Abhängigkeit der Atmung vom Wassergehalt wäre zu erwarten, daß die Größe Atmung/Wassergehalt nahezu konstante Werte besitzt. Das ist zum Teil, aber nicht immer, der Fall. Bei *Vicia* ergeben sich

Tabelle 11. *Atmung und Wassergehalt bei Rorippa und Vicia.* Versuchstemperatur 17°. Serien 14 und 15 Frühjahr 1948, Serien 13, 15 A und 18 Sommer und Herbst 1947 und 1948, Serie 20 Frühjahr 1948.

Serie	Atmung / Trockengewicht		Wassergehalt / Trockengewicht		Atmung / Blattfläche		Wassergehalt / Blattfläche		Anzahl der Versuche
	F	T	F	T	F	T	F	T	
Vicia.									
18 A	*3,86*	3,26	*1058*	839	0,84	*0,94*	1,15	*1,21*	4
18 B	*2,26*	2,07	*986*	887	0,43	*0,51*	0,88	*1,09*	5
20	2,97[1]	*3,32*	*796*	646	0,80	*1,23*	1,07	*1,21*	6
Rorippa.									
13	2,67	*3,47*	809	*957*	1,27	*1,58*	0,93	*1,12*	8
14	3,43	*6,20*	655	*952*	0,98	*1,76*	0,94	*1,24*	6
15	2,63	*4,02*	473	*906*	*0,89*[1]	0,81	0,73	*0,97*	4
15 A	*4,64*	3,86	*1163*	100	0,85	*0,87*	1,09	*1,10*	4

[1] Zu den Ausnahmen, vgl. Text und Tabelle 14.

für Serie 18A Werte von 0,39 (0,39) bzw. 0,23 (0,24) für Feucht- (bzw. Trocken-)kulturen. Die Werte für Serie 20 differieren dagegen erheblich: 0,37 bzw. (0,55). Ähnliches ergibt sich für *Rorippa*. Hier ist die Atmung/Wassergehalt gerade auch bei Serie 15 für Feucht- und Trockenkulturen verschieden. Offenbar wird also die Atmung noch von einem anderen Faktor beeinflußt, der in den beiden Serien besonders in Erscheinung tritt.

7. *Atmung und Trockengewicht.*

Aus der Zusammenstellung der Atmungswerte mit denen des Blatttrockengewichtes (Tabelle 12) ergibt sich, daß die Atmung/Blattfläche bei erhöhtem Trockengewicht vielfach ansteigt. Alle Serien von *Vicia* zeigen ein solches Verhalten. Bei *Rorippa* gerade die Serien, die in bezug auf den Zusammenhang von Atmung und Wassergehalt Unregelmäßigkeiten ergaben (Serie 15). Umgekehrt tritt offenbar bei *Rorippa* in den Serien 13 und 14 die Abhängigkeit der Atmung/Fläche vom Trockengewicht/Fläche deshalb nicht in Erscheinung, weil gerade hier eine besonders deutliche Abhängigkeit der Atmung vom Wassergehalt (vgl. Tabelle 11) vorhanden ist.

Tabelle 12. *Atmung und Blatttrockengewicht bei Rorippa und Vicia.* Versuchstemperatur 17°.

Serie	Atmung / Blattfläche		Trockengewicht / Blattfläche	
	F	T	F	T
		Vicia.		
18 A	0,84	*0,94*	0,109	*0,144*
18 B	0,43	*0,51*	0,090	*0,123*
20	0,80	*1,23*	0,137	*0,188*
		Rorippa.		
13	1,27	*1,58*[1]	*0,118*	0,115
14	0,98	*1,76*[1]	*0,142*	0,129
15	*0,89*	0,81	*0,156*	0,109
15A	0,85	*0,87*	0,095	*0,110*

Versuchszahl und Versuchszeit vgl. Tab. 11.
[1] Ausnahmen vgl. Text, sowie Tab. 11 und 13.

Bei erhöhter Versuchstemperatur (25°) tritt der Einfluß des Trockengewichtes noch deutlicher in Erscheinung. Bei den bei dieser Temperatur untersuchten Serien von *Rorippa* und *Vicia* ist stets bei erhöhtem Trockengewicht/Fläche, auch bei *Rorippa* Serie 14, die Atmung erhöht (Tabelle 13).

Auch hieraus geht also hervor, daß die Intensität der Atmung bei Trockenkulturen durchaus nicht immer erniedrigt ist. Die Atmung steht vielmehr in offenbar enger Beziehung zum Wassergehalt und zur Trockensubstanz der Blätter. Mit steigendem Blattwassergehalt (Wassergehalt/Fläche und Wassergehalt/Trockengewicht) steigt die Atmung an, ganz gleich ob der Blattwassergehalt, je nach der Pflanzenart, bei Feucht- oder Trockenkulturen erhöht ist. In etwas geringerem Ausmaß, aber bei höherer Temperatur stärker in Erscheinung tretend, steigt die Atmung

auch mit steigendem Trockengewicht an, wiederum ohne Rücksicht darauf, ob die Trocken- oder Feuchtkulturen das höhere Trockengewicht/Blattfläche besitzen. Auftretende Unregelmäßigkeiten der Atmung, die dem angegebenen Verhalten zu widersprechen scheinen, lassen sich recht gut durch den gerade dann hervortretenden Einfluß entweder vom Wassergehalt oder vom Trockengewicht deuten.

Tabelle 13. *Atmung und Blatttrockengewicht bei Rorippa und Vicia.* Versuchstemperatur 25°.

Serie	Atmung Blattfläche		Trockengewicht Blattfläche	
	F	T	F	T
		Vicia.		
20	1,26	*2,22*	0,137	*0,188*
		Rorippa.		
14	*1,89*	2,04	*0,142*	0,129
15	*1,57*	1,39	*0,156*	0,109

Versuchszahl und -zeit vgl. Tab. 11.

Besprechung der Ergebnisse.

Zur Erweiterung der Erfahrungen über den Dürreeffekt wurden Pflanzen untersucht, die sich bei Anzucht unter Trockenbedingungen in ihrem anatomisch-morphologischen Verhalten und in Hinsicht auf ihren Wasserhaushalt recht erheblich unterscheiden. Denn erst bei der Untersuchung verschiedener Anpassungstypen wird sich das allen gemeinsame physiologische Verhalten unter Trockenbedingungen gegen Eigenschaften abgrenzen lassen, die nur einem bestimmten Pflanzentyp eigentümlich sind und die sonst leicht als allgemeine Charakteristika des Dürreeffektes angesehen werden könnten. Außerdem ist zu erwarten, daß es bei der Betrachtung recht verschiedener Typen eher gelingt, die ursächlichen Zusammenhänge über den Einfluß von Trockenperioden auf das Pflanzenwachstum zu klären. Dabei ist anzunehmen, daß der Ursprung der verschiedenen Dürreeffekte nicht nur in den äußerlich sichtbaren Änderungen der anatomisch-morphologischen Struktur, sondern im submikroskopischen Bereich, also letztlich in einer Veränderung der Plasmastruktur, der Fermentwirksamkeit und im Mineralstoffwechsel der Zellen infolge der Abhängigkeit dieser Faktoren von dem veränderten Wasserhaushalt zu suchen ist. Die Kenntnis der tatsächlich wirksamen Vorgänge und ihr Zusammenspiel ist aber noch recht unklar, zumal wir größtenteils auf indirekte Schlüsse für die im Bereich von makromolekularer Größenordnung auftretenden Veränderungen angewiesen sind (BOGEN 1948; für die auftretenden Grundprobleme wird auf HÖBER, FREY-WYSSLING, HAUROWITZ u. a. Zusammenfassungen verwiesen). Trotzdem sind sehr beachtliche Ansatzpunkte für eine Arbeitshypothese zur Erklärung der Dürreresistenz beigebracht worden (vgl. STOCKER 1948, 1949, dort weitere Literatur). Die Erweiterung des Materials muß zeigen, ob die vorgebrachten Theorien zur allgemeinen Erklärung des Dürreeffektes ausreichen[1].

[1] Die nach Abschluß der Korrektur erschienene wesentliche Zusammenfassung und Kritik der Dürreresistenztheorie von J. LEVITT [Ann. Rev. Plant Physiol. 2, 245 (1951)] konnte hier leider nicht mehr berücksichtigt werden.

Die vorliegenden Versuche — es wurde nur die Wirkung langdauernder Bodentrockenheit, die zu einer Veränderung des anatomisch-morphologischen Blattbaues führt, untersucht — bezogen sich auf so verschiedene Typen wie *Vicia Faba*, *Trifolium incarnatum*, *Rorippa Nasturtium aquaticum* sowie *Andromeda polifolia*. Weitere Typen sind für laufende Untersuchungen noch einbezogen worden. Die Dimensionsquotienten (Tabellen 1, 2 und 7) geben ein Bild des verschiedenen Verhaltens.

Es ist eine weitverbreitete Ansicht, daß die Blätter von Trockenkulturen gegenüber Feuchtkulturen derselben Art immer eine Verringerung ihres Blattwassergehaltes aufweisen. Die vorliegenden Versuche zeigen nun aber, daß diese Annahme durchaus nicht immer zutrifft, auch dann nicht, wenn als Bezugssystem für den Blattwassergehalt das meistens verwendete Trockengewicht benutzt wird (vgl. *Rorippa* und *Andromeda* Tabelle 7, S. 319). Die Trockensubstanz als Bezugssystem des Wassergehaltes erweckt allerdings insofern leicht falsche Vorstellungen, als bei erhöhter Trockensubstanzeinlagerung, etwa in Wandstrukturen, scheinbar einer Zelle weniger Wasser zur Verfügung steht. Wesentlich günstiger zur Beurteilung des Wassergehaltes wäre natürlich der Wassergehalt/Eiweiß, notfalls auf den N-Gehalt bezogen (z. B. Mason und Phillis). Verwendet man als Bezugssystem die Blattfläche, so ist der Wassergehalt bei Trockenkulturen sogar durchweg erhöht, zum mindesten nicht erniedrigt (Inkarnatklee). Nun wurde bei Trockenkulturen bekanntlich eine Erhöhung des osmotischen Wertes und eine Steigerung der Viskosität festgestellt (z. B. Schmidt; Schmidt, Diwald und Stocker) und im wesentlichen als Folge des Wasserentzuges und der Plasmaentquellung gedeutet (Stocker 1948). Trotz der in unseren Versuchen vorhandenen Erhöhung des Wassergehaltes/Trockengewicht ist bei *Rorippa* aber dennoch eine Erhöhung des osmotischen Wertes und eine Steigerung der Viskosität vorhanden. Diese Viskositätserhöhung kann also nicht durch eine Entquellung des Plasmas verursacht sein, und es erscheint fraglich, ob man bei Trockenkulturen schlechthin von einer Entquellung des Plasmas sprechen kann. Offenbar tritt (vgl. Wassergehalt/Blattfläche) gar keine Hydratationsminderung, sondern im Gegenteil bei den Trockenkulturen (bei langdauernder Bodentrockenheit) zumindest vielfach eine Hydratationssteigerung der Plasmakolloide ein, die ebenfalls die Ursache einer erhöhten Viskosität des Plasmas infolge vermehrter innerer Reibung sein könnte. Bereits Schmidt zog zur Erklärung der Viskositätserhöhung an Trockenkulturen eine Hydratationssteigerung der Plasmakolloide in Erwägung. Diese Vorstellung befindet sich gleichzeitig in Übereinstimmung mit der Deutung der erhöhten Viskosität bei der Kälteresistenz (Kessler und Ruhland) und ist in Übereinstimmung mit der Ansicht Bogens, daß durch die Entfernung ungebundenen Wassers und durch Geringhalten des abundanten Wassers infolge verstärkten Wasserbindungsvermögens der Eiweiß-

makromoleküle auch die Hitzeresistenz erhöht wird. Die hier gefundene Erhöhung der Wasserbindungsfähigkeit der Blätter von Trockenkulturen bei erhöhter Viskosität läßt sich also mit den Untersuchungen zur Kälte- und Hitzeresistenz in Einklang bringen. Allerdings darf nicht außer acht gelassen werden, daß ein verstärkter Hydratationsgrad nicht ohne weiteres als direkte Ursache einer Resistenzerhöhung gedeutet werden darf (BOGEN). So kommt es in Hinsicht auf die Hitzeresistenz nach BOGEN bei der Einwirkung verschiedener Ionen offenbar durch Beeinflussung der Ladungsverhältnisse der Eiweiße infolge Änderung des „Hydratationsmusters" sogar durchweg zu einer Herabsetzung der Hitzeresistenz, die um so größer ist, je stärker quellungsfördernde Ionen ohne Ladungsabgabe an die Eiweißmoleküle adsorbiert werden. Zur Steigerung der Hitzeresistenz muß das „Hydratationsmuster" bei erhöhter Hydratation erhalten bleiben und, das gilt anscheinend nun auch für Trockenkulturen, sogar stabilisiert werden, was bei meinen langfristigen Versuchen durchaus wahrscheinlich ist.

Mit jedem Dürreeffekt ist nach STOCKER außer einer Entquellung des Plasmas eine Erniedrigung des K/Ca-Verhältnisses verbunden, die beide zur stärkeren Verdichtung und Vernetzung des Plasmagerüstes und damit zur Erhöhung der Viskosität führen sollen. Meine Ergebnisse machen eine solche Entquellung, wie wir im letzten Abschnitt gesehen haben, nicht wahrscheinlich. Aber auch eine Erniedrigung des K/Ca-Verhältnisses konnte von uns nicht gefunden werden, obgleich die Viskosität erhöht war. Soweit hierüber (von meinem Mitarbeiter WERK) an unserem Material noch laufende Versuche bisher zeigen, und worüber später genauer berichtet werden soll, scheint sich das K/Ca-Verhältnis bei Trockenkulturen durchaus nicht einheitlich zu verhalten. So ergab sich aus Bestimmungen des K- und Ca-Gesamtgehaltes[1], und zwar jeweils einzelner Blätter der Feucht- und Trockenkulturen bei *Vicia Faba*, ein K/Ca-Verhältnis von 2,32 (Mittel aus 26 Bestimmungen) für Feuchtpflanzen, für vergleichbare Blätter von Trockenpflanzen ein solches von 2,75 (22 Best.). Für *Rorippa* (Gesamtblattgehalt) entsprechend für Feuchtpflanzen 5,45 (27), für Trockenpflanzen 7,34 (37)[2]. Damit entfällt die Behauptung einer Parallelität zwischen der Höhe des K/Ca-Quotienten mit der Viskosität des Plasmas. Die Allgemeingültigkeit einer solchen Beziehung zwischen K/Ca-Verhältnis und Viskosität wird übrigens jüngst auf Grund der Untersuchungen von Ca-Mangelzellen von PIRSON und SEIDEL ebenfalls in Zweifel gezogen.

[1] Bedenken, aus dem Gehalt des ganzen Blattes an K und Ca auf die Mengen im Plasma zu schließen, teilen wir durchaus.

[2] Auf die auch von uns bestätigte Verminderung des K/Ca-Verhältnisses mit dem Alter (FISCHER 1949) und daraus sich ergebende Komplikationen bei Feucht- und Trockenkulturen, überhaupt auf eine Diskussion des Mineralstoffwechsels von Trockenkulturen soll aber an dieser Stelle noch nicht näher eingegangen werden.

Wir kommen nun zur Besprechung der Assimilationsversuche. Es ergab sich, daß die früher ausführlich (SIMONIS 1947, 1949) festgestellte Erhöhung der Photosynthese von Trockenkulturen bei den hier untersuchten Pflanzen überall zutrifft. Diese Erhöhung scheint also bei Trockenkulturen eine vielfach vorhandene Reaktion darzustellen. Abgesehen von früher von mir zitierten Angaben wurden übrigens in einer mir erst jüngst zugänglich gewordenen Arbeit von ALLMENDINGER und Mitarbeitern an Apfelblättern bei Anzucht mit stark verminderten Wassergaben (vgl. Tabelle 4 l. c.) ebenfalls erhöhte CO_2-Aufnahmen gemessen.

Die erhöhte Photosynthese der Trockenkulturen zeigte bei einem Vergleich mit den entsprechenden Dimensionsquotienten der untersuchten Arten weder eine Beziehung zum Trockengewicht/Blattfläche — Erhöhung dieses Wertes bei den Trockenkulturen von *Vicia*, *Trifolium* und *Andromeda*, dagegen Erniedrigung bei *Rorippa* — noch einen völlig durchgehenden Zusammenhang mit dem Sukkulenzgrad (Wassergehalt/Blattfläche), vgl. *Trifolium*. Auch der Wassergehalt der Trockenkulturen (Wassergehalt/Trockengewicht) steht in keiner Beziehung zur erhöhten Photosynthese. Lediglich die bei allen Trockenkulturen erniedrigte Oberflächenentwicklung ist durchgängig mit einer erhöhten Photosynthese verknüpft. THODAY und TURELL haben bereits den Gedanken geäußert, daß Verringerung der äußeren Oberfläche bei vergrößerter innerer Oberfläche zu einer erhöhten Photosynthese führen könne, eine Ansicht, der sich ohne weitere Untersuchungen SHIELDS anschließt. Ob dieser Gesichtspunkt, der durch unsere Untersuchungen auch nahegelegt wird, zu Recht besteht, oder ob die erhöhte Photosynthese bei Trockenkulturen noch durch andere Ursachen hervorgerufen wird, wie anatomische Struktur, Chlorophyllgehalt, bzw. nach einer Annahme STOCKERS, Änderung der Fermentwirksamkeit (vgl. Diskussion in SIMONIS 1947), wird gegenwärtig weiter geprüft.

In Hinsicht auf die Atmung ergaben die Versuche im Gegensatz zur Photosynthese kein einheitliches Verhalten der trocken gezogenen Pflanzen. Die Ergebnisse von KRAFT (1944) (vgl. auch STOCKER 1948), die eine Verringerung der Atmung bei steigender Bodentrockenheit (Dauerkultur) fand, sind offenbar nur für bestimmte Pflanzentypen zutreffend und gelten nicht allgemein. Eine solche Verringerung der Atmung von Trockenkulturen tritt offensichtlich dann ein, wenn der Wassergehalt/Trockengewicht bei Trockenkulturen verringert ist, wie meine Versuche an *Vicia Faba* und gewisse Versuchsserien von *Rorippa* zeigen. Infolge der engen Korrelation der Atmung mit dem Blattwassergehalt steigt aber die Atmung mit steigendem Wassergehalt, so daß bei solchen Typen, deren Trockenkulturen einen erhöhten Blattwassergehalt/Trockengewicht aufweisen, auch eine erhöhte Atmung durchaus möglich ist, wie die

Versuche mit *Rorippa* beweisen. Einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Atmung und Wassergehalt hieraus zu folgern liegt nahe, zumal die Abhängigkeit der Atmung vom Wassergehalt bekanntlich schon häufig festgestellt wurde (vgl. etwa MEYER und PLANTEFOL, ROMOSSE u. a.) und als in ursächlichem Zusammenhang stehend angesehen wird.

Außerdem zeigt sich eine deutliche Abhängigkeit der Atmung vom Blatttrockengewicht. Auch über eine solche Erhöhung der Atmung bei erhöhtem Trockengewicht bzw. erhöhtem Kohlenhydratgehalt ist in der Literatur verschiedentlich berichtet worden (z. B. WHITE und TEMPLEMAN). Durch einen besonders starken Anstieg oder Abfall des Trockengewichtes und des Wassergehaltes können in einzelnen Versuchen Abweichungen im Verhalten der Atmung auftreten etwa derart, daß das besonders erhöhte Trockengewicht die Korrelation der Atmung mit dem Wassergehalt stört (Tabellen 11, 12). STOCKER (1948) berichtet z. B. über ein starkes Ansteigen der Atmung/Trockengewicht bei sehr trocken gezogenen Kulturen vom Hafer und vermutet eine „pathologische" Atmungssteigerung. Es dürfte sich aber auch dort möglicherweise darum handeln, daß bei solchen extremen Trockenkulturen das Trockengewicht/Blattfläche (jedenfalls im Fall von Hafer) sehr erhöht ist, so daß sich hier besonders die Abhängigkeit der Atmung vom Trockengewicht gegenüber dem Wassergehalt durchsetzt. Meine Serie 20 von *Vicia Faba* zeigt bei niedrigstem Wassergehalt/Blatttrockengewicht genau das gleiche abweichende Verhalten: die Atmung der trockenen ist gegenüber der der feuchten Pflanzen erhöht (Tabelle 11). Werden dann aber Atmung und Trockengewicht miteinander verglichen, so ist jetzt keinerlei Überschneidung mehr vorhanden: mit steigendem Trockengewicht/Blattfläche ist die Atmung/Blattfläche bei dem Vergleich der Trocken- und Feuchtkulturen aus der gleichen Serie immer erhöht (vgl. Tabelle 12). Ein „pathologischer" Anstieg der Atmung liegt demnach offenbar nicht vor.

In der Dürreresistenztheorie STOCKERs wird die von ihm und seinen Mitarbeitern gefundene Erniedrigung der Atmung bei Trockenkulturen (nach längerer Anzuchtdauer) mit der veränderten Plasmastruktur und mit dem hierdurch geänderten Ablauf der Fermentprozesse in Beziehung gesetzt: Durch die stärkere Vernetzung der Plasmaelemente sollen die Fermente näher mit den Plasmastruktureiweißen in Berührung kommen und sich stärker im adsorbierten Zustand befinden als bei Feuchtkulturen und sollen daher nach OPARIN, SYSSAKYAN und KOBYAKOVA, sowie nach KURSSANOW stärker zur Synthese, weniger zur Hydrolyse befähigt sein, wodurch die Herabsetzung der Atmung erklärt würde. Auf Grund der vorliegenden Versuche ergibt sich, daß zwar die Versuchsergebnisse der angeführten Autoren für die jeweils untersuchten Pflanzen und Fermentsysteme zu Recht bestehen mögen, daß aber die Folgerung STOCKERs nicht generell auf alle Trockenkulturen angewendet

werden kann, da bei bestimmten Pflanzenarten die Trockenkulturen erhöhte Wassergehaltswerte oder ein besonders vermehrtes Blatttrockengewicht und damit erhöhte Atmungswerte gegenüber den Kontrollen besitzen, so daß die Fermentreaktionen bei Trockenkulturen nicht einheitlich verändert sein können.

Trotzdem braucht die Vorstellung eines Zusammenhanges von Fermentwirksamkeit, Atmung und Wassergehalt nicht aufgegeben zu werden: Der von mir gefundene, ganz unabhängig von der Art der Vorkultur vorhandene enge Zusammenhang von Atmung und Blattwassergehalt läßt sich unter Einbeziehung der Vorstellungen STOCKERs möglicherweise durch eine Änderung der Fermentwirksamkeit in Abhängigkeit vom jeweiligen Wasservorrat erklären.

Zusammenfassung.

1. Es wurden einige Pflanzenarten, vor allem *Vicia Faba* und *Rorippa Nasturtium aquaticum*, neben *Trifolium incarnatum* und *Andromeda polifolia*, bei niedrigem und hohem Bodenwassergehalt angezogen und auf bestimmte auftretende morphologische und physiologische Modifikationen, wie Dimensionsquotienten, Wassergehalt, osmotischer Wert, Viskosität, Photosynthese und Atmung, näher untersucht.

2. Die untersuchten Arten verhalten sich bei Trockenkultur morphologisch nicht gleich. Es treten Unterschiede auf, die in den Dimensionsquotienten (Tabellen 1, 2 und 7) zum Ausdruck kommen. Ein gemeinsames Merkmal aller untersuchten Trockenkulturen ist nur die Verringerung ihrer Oberflächenentwicklung.

3. Entgegen der geläufigen Ansicht ist bei Trockenkulturen der Wassergehalt der Blätter (Wassergehalt/Trockengewicht) durchaus nicht immer erniedrigt, der Sukkulenzgrad sogar durchweg erhöht. Die Hydratation des Plasmas von Trockenkulturen wird also nicht erniedrigt, sondern bleibt erhalten oder wird erhöht. Eine Entquellung des Plasmas tritt nur bei plötzlichem oder sehr starkem Wasserverlust, nicht aber bei langdauernder Anzucht unter Trockenbedingungen auf.

4. Osmotischer Wert und Viskosität sind bei Trockenkulturen auch bei vermehrtem Blattwassergehalt erhöht. Die gesteigerte Viskosität läßt sich durch vergrößerte Reibung bei erhöhter Hydratation der Plasmakolloide erklären.

5. Die Photosynthese steigt bei allen untersuchten Trockenkulturen an. Die Ursache hierfür könnte u. a. in der Verringerung der Oberflächenentwicklung zu suchen sein. Andere Dimensionsquotienten, sowie Wassergehalt und Trockengewicht stehen nicht in durchgehender Beziehung zur Photosynthese.

6. Die Atmung von Trockenkulturen ist im Gegensatz zur Photosynthese nicht einheitlich gegenüber den Kontrollen verändert. Die

Atmung steigt vielmehr in erster Linie mit dem Blattwassergehalt, außerdem aber auch mit steigendem Trockengewicht an. Eine allgemeine Erniedrigung der Atmung tritt bei Trockenkulturen nicht ein.

7. In der Besprechung werden die Ergebnisse im Zusammenhang mit der Dürreresistenztheorie STOCKERs diskutiert.

Literatur.

ALLMENDINGER, D. F., A. L. KENWORTHY and E. L. OVERHOLSER: Amer. Soc. Hort. Sci. **42**, 133 (1943). — BÖTTICHER, R., u. L. BEHLING: Flora (Jena) **34**, 1 (1940). — BOGEN, H. J.: Planta (Berl.) **36**, 298 (1949). — FISCHER, H.: Planta (Berl.) **37**, 244 (1949). — FLEISCHHAUER-BINZ, E.: Planta (Berl.) **37**, 565 (1949). — FREY-WYSSLING, A.: Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives. New York 1948. — GESSNER, F., u. M. SCHUMANN-PETERSEN: Z. Naturforschg **3b**, 36 (1948). — HAUROWITZ, F.: Chemistry and biology of proteins. New York 1950. — HÖBER, R.: Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe. Bern 1947. — KESSLER, W., u. W. RUHLAND: Planta (Berl.) **28**, 159 (1938). — KRAFT, M. S.: Diss. Darmstadt 1944. — KURSSANOV, A. L.: Adv. Enz. **1**, 329 (1941). — MASON, T. G., and E. PHILLIS: Ann. of Bot. N. s. **7**, 157 (1943). — MEYER, A., et L. PLANTEFOL: C. r. Acad. Sci. Paris **178**, 1385 (1924). — MOTHES, K.: Biol. Zbl. **52**, 193 (1932). — MÜLLER-STOLL, W. R.: Planta (Berl.) **35**, 225 (1948). — OPARIN, A.: Enzymologia **4**, 13 (1937). — PÄTAU, K.: Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — PIRSON, A., u. F. SEIDEL: Planta (Berl.) **38**, 431 (1950). — ROMOSSE, V.: Dansk Bot. Arkiv **10**, H. 4 (1940). — SCHMIDT, H.: Protoplasma (Berl.) **33**, 25 (1939). — SCHMIDT, H., K. DIWALDT u. O. STOCKER: Planta (Berl.) **31**, 559 (1941). — SHIELDS, L. M.: Bot. Rev. **16**, 399 (1950). — SIMONIS, W.: Planta (Berl.) **35**, 188 (1948). — Biol. Zbl. **67**, 77 (1949). — STOCKER, O.: Jb. Bot. **75**, 494 (1932). — Naturwiss. **34**, 362 (1947). — Planta (Berl.) **35**, 445 (1948). — SYSSAKYAN, N.: The biochemical characters of drought resistant plants (engl. Zusammenfassung). Moskau 1940. — SYSSAKYAN, N., i A. KOBYAKOVA: Biochimia (USSR.) **5**, 301 (1940). — THODAY, D.: J. Ecology **19**, 297 (1931). — TURELL, F. M.: Amer. J. Bot. **23**, 255 (1936); **29**, 400 (1942). — WEBER, F.: Protoplasma (Berl.) **5**, 622 (1929). — WHITE, H. L., and W. G. TEMPLEMAN: Ann. of Bot., N. s. **1**, 191 (1937).

Dozent Dr. W. SIMONIS, Hannover, Misburger Damm 16,
Botanisches Institut der Tierärztl. Hochschule.

Planta, Bd. 40, S. 333—345 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz.

ÜBER DIE BLATTSTELLUNG EINIGER HYDROCHARITACEEN-EMBRYONEN.

Von

BARBARA HACCIUS.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Oktober 1951.)

An den Keimlingen der Monokotylen findet man bekanntlich in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle das erste auf den Kotyledo folgende Blatt in einer jenem genau opponierten Stellung. Wird diese $^1/_2$-Divergenz der 2 ersten Blattorgane auch bei den folgenden beibehalten, dann resultiert eine orthodistiche Blattanordnung, die ja besonders häufig an monokotylen Pflanzen zu beobachten und für eine Reihe von Familien (Gramineen, Butomaceen, Restionaceen usw.) charakteristisch ist (Abb. 1, *I*).

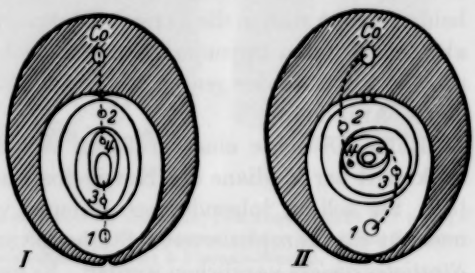


Abb. 1. Schematische Darstellung der distichen (*I*) und spirodistichen (*II*) Keimlingsblattstellung bei Monokotylen. Man beachte die bilaterale bzw. radiäre Symmetrie des Vegetationspunktes.

Ein früher oder später einsetzender Übergang der durch die Zweizeiligkeit gegebenen Bilateralität zu radiärer Sproßsymmetrie führt vielfach zu einer „Schraubung" der beiden Orthostichen, wodurch eine Form der dispergierten Blattstellung entsteht, die gemäß ihrer morphologischen Ableitung aus der Distichie *Spirodistichie* genannt wird (Abb. 1, *II*). GOEBEL (1912 und 1928), dessen Ergebnisse durch die Untersuchungen von HIRMER (1922) und VON VEH (1931) bestätigt wurden, konnte wahrscheinlich machen, daß es sich in allen Fällen nicht-orthodistischer Blattanordnung bei den Monokotylen um eine auf die geschilderte Weise modifizierte Zweizeiligkeit handelt. Selbst für die seltenen Beispiele streng dekussiert angeordneter Wirtel bei *Gloriosa*, *Dioscorea*-Arten und anderen hat ECKARDT (1941) die Distichie als Ausgangsstellung an den Keimpflanzen nachgewiesen. Es kann also die Distichie als die typische Blattstellung der Monokotylen angesehen werden[1].

[1] Näheres bei TROLL (1937, S. 418).

Bei der Bedeutung, die die opponierte Stellung von Kotyledo und Blatt 1 als „Anfangsdistichie" selbst bei später stark abweichender Blattanordnung für die Theorie der Monokotylen-Blattstellungen hat, ist es erstaunlich, daß von keinem der Untersucher die Problematik der wenn auch seltenen Fälle gesehen wurde, bei denen die Plumula mit 2 einander opponierten, aber transversal zur Mediane des Kotyledos inserierten Blättern beginnt.

Diese Anordnung ist vor allem von einigen Vertretern der Helobiae bekannt geworden[1]. So bemerkt schon IRMISCH (1865) in seiner Schilderung der Keimungsgeschichte von *Stratiotes*, daß das erste Laubblatt bei *Najas maior* „ähnlich wie bei Stratiotes Al. und bei Sagittaria sagittifolia, links oder rechts von der Mediane des Keimblattes" stehe. Ein Diagramm der Blattstellungsverhältnisse am Keimling von *Sagittaria sagittifolia* wurde von SOUÈGES (1931) entworfen, und ECKARDT bildet einen Querschnitt durch einen reifen Embryo von *Najas minor* ab. In beiden Fällen stehen die 2 ersten Blattanlagen transversal zum Kotyledo, aber nicht genau opponiert, sondern nach der Öffnung der Kotyledonarscheide hin einander genähert. Die folgenden Primordien haben dispergierte Anordnung.

Reine Distichie einer größeren Anzahl von Blättern in der Ebene senkrecht zur Mediane des Kotyledos wurde bisher noch nicht beschrieben. Sie soll im folgenden am Beispiel von *Enalus acoroides* analysiert und mit den komplizierteren Stellungsverhältnissen in der Plumula von *Stratiotes aloides* verglichen werden. Es werden sich dabei Gesichtspunkte ergeben, einerseits bezüglich der Ableitung einer speziellen Form zerstreuter Blattanordnung aus der Distichie und andererseits für die Beziehung der Lage des Kotyledos zu der Stellung der übrigen Blattorgane. Durch den Vergleich mit den Embryoformen weiterer Hydrocharitaceen wird es schließlich möglich sein, die typologischen Gemeinsamkeiten der zunächst verbindungslos nebeneinander stehenden mediandistichen und transversaldistichen Keimlingsblattstellungen herauszuarbeiten.

In den Abbildungen bedeuten: *Co* Kotyledo (schraffiert); 1, 2 usw. die auf den Kotyledo folgenden Blattorgane in der Reihenfolge ihrer Entstehung; *Pl* Plumula; *Squ* Intravaginalschuppen (punktiert).

1. Enalus acoroides (L. fil.) STEUD.

[Ältere Schreibweise: *Enhalus acoroides* (L. f.) RICH.]

Der Embryo von *Enalus acoroides*[2] besitzt eine weit entwickelte Plumula mit 6—8 Blattanlagen, so daß er, ebenso wie derjenige von

[1] Vielleicht muß auch *Commelina coelestis* genannt werden, bei deren Keimlingen nach SCHLICKUM (1896) das erste Laubblatt dem Kotyledo nicht gegenüber, sondern mehr oder weniger seitlich verschoben inseriert ist.

[2] Das Material wurde von Herrn Prof. Dr. W. TROLL 1929 im Gebiet der Aru-Inseln (Dobo) gesammelt; er stellte es mir liebenswürdigerweise zur Verfügung wofür ihm herzlich gedankt sei.

Stratiotes, gestattet, auch ohne Untersuchung ausgewachsener Keimpflanzen fundierte Angaben über die Keimlingsblattstellung zu machen. Nach SVEDELIUS (1904) ist bei dieser an den tropischen Küsten des Indischen und westlichen Stillen Ozeans „submarine Wiesen" bildenden Hydrocharitacee die Samenschale so hinfällig, daß sie bald nach der Öffnung der Frucht zerreißt und abfällt. Die nackten Embryonen (Abb. 3, *I* und *II*) sinken in den Schlamm, wo sie ohne Ruhepause keimen. Als Speicherorgan funktioniert in der Hauptsache der sehr massig entwickelte Kotyledo, der dem Embryo seine eigenartige kurzkegelförmige Gestalt gibt. Die Radicula (*Pw* Primärwurzel in Abb. 3) befindet sich in der Mitte der abgeflachten Basis des Keimes als kleine

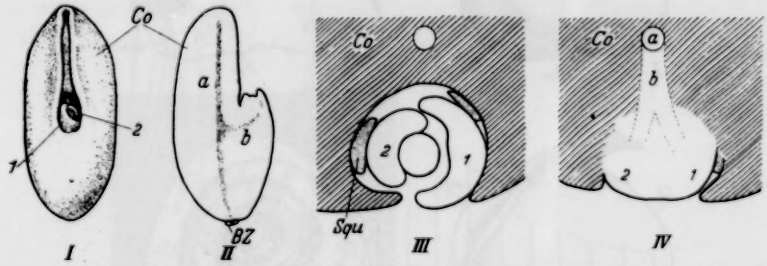


Abb. 2. Jüngerer Embryo von *Enalus acoroides*. *I* Aufsicht; *II* Längsschnitt; *III* und *IV* Querschnitt durch die Plumula auf der Höhe des Vegetationspunktes und dicht darunter. *Bz* Basalzelle; *a* Kotyledonarbündel; *b* Plumulabündel.

Erhebung. Sie entwickelt sich nicht weiter, und ihre Funktion bei der Keimung wird durch eine zeitig direkt unter der Plumula entspringende sproßbürtige Wurzel (*Sw*) übernommen.

KAUSIK (1940) hat die Embryologie von *Enalus* untersucht, eingehend allerdings nur bis zu den ersten Teilungen der Zygote. Von der eigentlichen Embryoentwicklung schreibt er nur, daß sie vermutlich ähnlich verlaufe wie bei den anderen Gliedern der Familie. Die abweichende Stellung der Plumularblätter wird nicht erwähnt.

Die jüngsten Embryonen, die mir zur Verfügung standen (Abb. 2), wiesen schon eine wohlentwickelte Knospe auf mit einer oder 2 Blattanlagen. Sie liegt am Grunde einer ziemlich tiefen, unten etwas erweiterten und fast bis zur Spitze des Kotyledos sich erstreckenden Rinne (Abb. 2, *I*). Die Ränder der Kotyledonarbasis sind schwach entwickelt und umgreifen die Plumula nicht. Die Verhältnisse werden aus dem medianen Längsschnitt Abb. 2, *II* deutlich. Man beachte die auf diesem Stadium noch nicht kollabierte riesige Basalzelle (*Bz*). Eine solche ist auch bei einer Reihe von anderen Hydrocharitaceen *(Elodea, Vallisneria, Ottelia)* sowie bei weiteren Vertretern der Helobiae zu beobachten. Der von KAUSIK (S. 92, Fig. 24) abgebildete Längsschnitt ist insofern

irreführend, als er die Sproßspitze in einer nach vorn und oben geschlossenen Höhlung zeigt, ein Bild, das nur durch nicht mediane Schnittführung zustande gekommen sein kann.

Die Querschnitte (Abb. 2, *III* und *IV*) lassen erkennen, daß die Mediane des ersten Blattes um etwa 90° von der Mediane des Kotyledos divergiert und daß das zweite Primordium dem ersten gegenüber entspringt. In der Achsel des Keimblattes sind 2 der für viele Helobiae

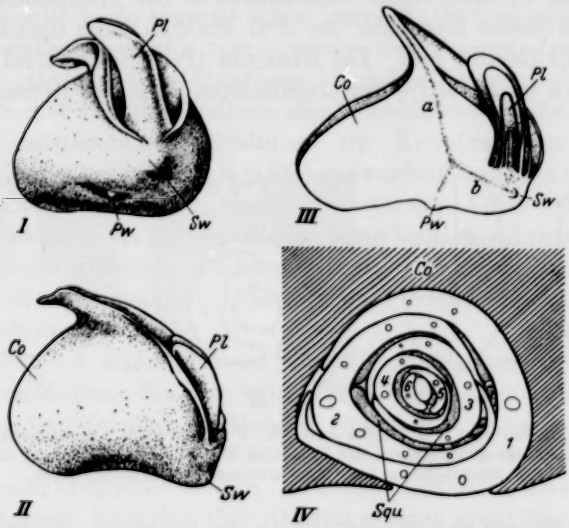


Abb. 3. Reifer Embryo von *Enalus acoroides*. *I* Von schräg unten; *II* von der Seite; *III* längs aufgeschnitten; *IV* Querschnitt durch die Plumula. *Pw* Primärwurzel; *Sw* Sekundärwurzel.

charakteristischen Intravaginalschuppen (*Squ Squamulae intravaginales*) sichtbar. Die Bündelversorgung geschieht durch einen vom durchlaufenden Kotyledonarstrang abzweigenden Ast (a und b in Abb. 2, *IV* und Abb. 3, *III*), der sich bald teilt und mit seinen Zweigen in das erste und zweite Blatt einzieht.

Im Laufe der weiteren Entwicklung speichert der immer massiger werdende Kotyledo sowie auch das Hypokotyl reichlich Stärke, und die Plumula vermehrt die Zahl der Blattanlagen auf 6—7. Wie aus dem Querschnitt Abb. 3, *IV* erkennbar ist, wird die transversale Anfangsdistichie beibehalten, modifiziert allerdings durch eine mehr oder weniger deutliche Dorsiventralität. Die nach dem Kotyledo hinweisenden Blatthälften sind jeweils gefördert, wie aus dem Übergreifen der hinteren Blattbasenränder über die vorderen zu schließen ist. Zweizeiligkeit der Laubblätter, sowie eine dorsiventrale Gesamtsymmetrie sind der Darstellung TROLLS (1931) zufolge auch an den schief aufsteigenden Sproßachsen der erwachsenen Pflanze zu beobachten.

2. *Stratiotes aloides* L.

a) Vorbemerkungen. Die Keimungsgeschichte von *Stratiotes* ist von IRMISCH (1865) eingehend untersucht und beschrieben worden. Im kaum fertig ausgebildeten Samen besitzt der Embryo schon eine Sproßknospe mit 10 und mehr Blattanlagen, von denen IRMISCH bemerkt, daß sie „in spiraliger Anordnung" inseriert seien. Die Ränder der Kotyledonarbasis sind noch schwächer als bei *Enalus* ausgebildet, so daß die Plumula völlig frei dem an dieser Stelle nur wenig eingewölbten Kotyledo anliegt. Die beiden ersten Blättchen reichen schon im Samen bis fast zur Spitze des Keimblattes (Abb. 4, *I*).

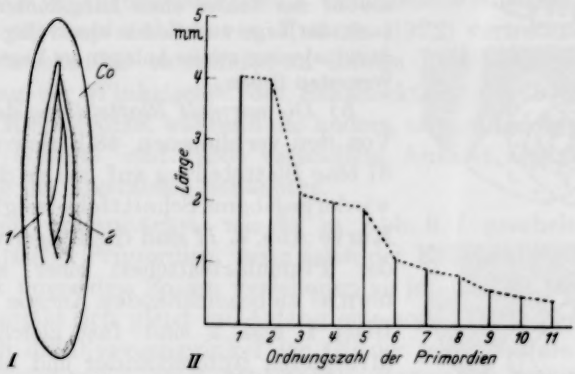


Abb. 4. *Stratiotes aloides*. *I* Embryo in Aufsicht; *II* Längenkurve der Primordien.

Hier interessiert vor allem die Natur jener „spiraligen Anordnung", die sich bei genauerem Zusehen als recht variabel erwiesen hat. Es wurden daher 50 reife *Stratiotes*-Embryonen auf ihre Blattstellung hin untersucht, und zwar teils präparativ, teils mit Hilfe von Mikrotomschnitten.

Wesentlich für die Analyse von Stellungsverhältnissen ist die genaue Kenntnis der genetischen Folge der zu untersuchenden Organe. Im allgemeinen geht man nicht fehl, wenn man bei Laubblättern als Kriterium die im Knospenschnitt deutlich werdenden Deckungsverhältnisse der Blattanlagen benutzt nach der Regel, daß die Ränder der jeweils älteren Blätter über diejenigen der jüngeren hinweggreifen. Dabei sind stets die Deckungsverhältnisse der Blattbasen entscheidend, die gelegentlich andere sein können als die der Spreiten. Schwierigkeiten bei der Anwendung dieser Methode machen lediglich enggepackte Konvolute langgestreckter, dicht aufeinander folgender Blattorgane mit relativ geringer Insertionsfläche. Um solche handelt es sich bei den *Stratiotes*-Keimen. Es ist daher nötig, ein weiteres Kriterium für die exakte Feststellung der Organfolge heranzuziehen. Ein solches ist in der relativen Länge der Primordien gegeben, die ja als ein, wenn auch nicht stets eindeutiges Maß für die Entwicklungshöhe angesehen wird. Die Längenverhältnisse lassen sich aus der vollständigen Serie von Knospenquerschnitten ablesen, einfacher noch ergeben sie sich beim Präparieren der Plumula. Diese letzte Methode ist bebesonders bei geringfügigen Längenunterschieden unbedingt der Schnittauswertung

vorzuziehen, weil eine oft nicht zu vermeidende nur ganz leicht schräge Schnittführung irreführende, die wahren Verhältnisse geradezu umkehrende Bilder liefern kann.

Bei den im folgenden zu beschreibenden Keimknospen wurden die Blattanlagen unter gleichmäßiger Heranziehung beider Kriterien numeriert. Wo die Ergebnisse des Längenvergleichs mit den Deckungsverhältnissen nicht übereinstimmten, wurden die ersteren als entscheidend angesehen. Es handelt sich nämlich in diesen kritischen Fällen stets um Blattorgane, deren Insertionsflächen sich nur berühren, während das Übergreifen erst an den weiter oben gelegenen Randzonen sichtbar ist, man vergleiche etwa Blatt 7 und 8 in Abb. 5, *II* und *III*. In 2 Fällen war eine exakte Feststellung der Entstehungsfolge nicht bei allen Blättern möglich, weil sowohl das Fehlen eines Längenunterschiedes wie auch die Lage zueinander eine völlig gleichzeitige Ausgliederung zweier Anlagen am Vegetationspunkt vermuten ließen.

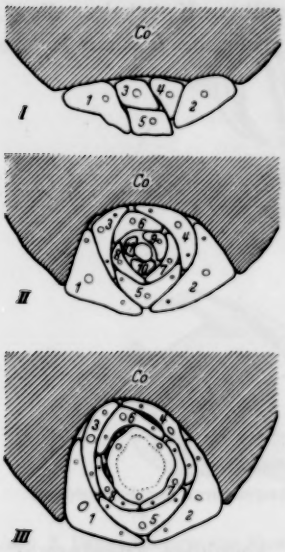


Abb. 5. *Stratiotes aloides*, Querschnitte durch die Spitze (*I*), den Vegetationspunkt (*II*) und die Basis (*III*) der Plumula.

b) Die normale Blattstellung der Plumula. Von den verbliebenen 48 Embryonen wiesen 31 eine Blattstellung auf, wie sie die in Abb. 5 wiedergegebene Schnittfolge zeigt. Aus der Kurve Abb. 4, *II* sind die Längenverhältnisse der Plumularblättchen einer solchen als normal zu bezeichnenden Knospe ersichtlich. Blatt 1 und 2 sind fast gleich groß, sie divergieren untereinander und eben so mit dem Kotyledo um etwa 120°. Die Primordien 3, 4 und 5 sind trotz nachweisbar sukzedaner Entstehungfolge stellungs- und größenmäßig zu einer Gruppe zusammengeschart. Eine mit der vorigen alternierende Dreiergruppe bilden die Anlagen 6, 7 und 8, ebenso 9, 10 und 11, und zwar so, daß *stets das erste Glied der neuen Gruppe dem letzten der vorhergehenden opponiert ist.*

Betrachtet man die Insertionen der älteren Primordien in Abb. 5, *III*, so könnte man glauben, alternierende dreigliedrige Wirtel vor sich zu haben. Die frisch ausgegliederten Anlagen in der Umgebung der Sproßspitze (Abb. 5, *II*) beweisen aber, daß das Nebeneinander der Glieder einer Gruppe erst eine Folge der Achsenerstarkung bei gleichzeitiger Internodienunterdrückung ist. Es handelt sich also um „Scheinwirtel" im Sinne GOEBELS (1912), wenn auch später an der Blattrosette der ausgewachsenen Pflanze infolge der allgemein gestaucht bleibenden Sproßglieder von solchen äußerlich nichts zu erkennen ist. Analog der „Blattpaarung" in den von ECKARDT untersuchten zweigliedrigen „Wirteln" bei Monokotylen könnte man hier von einer „Dreierung" der Organe sprechen. Bei Verbindung der einander entsprechenden Glieder jedes

„Wirtels" werden 3 ineinander gewundene Blattzeilen sichtbar (Abbildung 6, *II*), auf die die Bezeichnung „Spirotristichie" für Anordnungen wie die vorliegende zurückgeht [Hirmer (1922) und Troll (1937)].

c) Diskussion der Spirodistichie- bzw. Spirotristichie-Theorie der dreizeiligen Organstellungen. Wie schon erwähnt, ließ sich in allen Fällen von „Monokotylendekussation" zeigen, daß die Wirtelbildung zustande kommt durch Abwandlung der Keimpflanzendistichie im Sinne einer longitudinalen und lateralen Kopplung der Glieder der beiden Blattzeilen. Bei dem Versuch eines entsprechenden Verständnisses dreigliedriger Anordnungen wie der vorliegenden sind 2 verschiedene Anschauungen möglich. Die eine, hauptsächlich von Hirmer (1922) vertretene, sieht die 3 Stichen als sekundär entstanden an infolge „stärkerer Schraubung" (= Erhöhung der Winkelgröße des Schaltsektors) der beiden Blastostichen der Keimpflanze, während die andere, neuerdings besonders von Plantefol (1946/47 und 1950) verteidigte Ansicht eine tatsächliche Vermehrung der Blattzeilen behauptet.

Versuchen wir zunächst, wie es in Abb. 6, *I* geschehen ist, die gerade bezifferten Primordien, wozu auch der Kotyledo zu rechnen ist, und die mit ungeraden Zahlen versehenen zu je einer Blattzeile zu verbinden, so ergibt sich gleich zu Anfang eine sog. „Umkehrung der Spirale". Auch die Divergenzwinkel der Glieder jeder Spirale gruppieren sich durchaus nicht um einen Mittelwert, sondern regelmäßig folgt auf eine Divergenz von etwa 120° 2mal eine solche von etwa 60°. Diese Schwierigkeiten schließen allerdings die vorgetragene Deutung nicht prinzipiell aus, lassen aber Zweifel an ihrer uneingeschränkten Verwendbarkeit aufkommen.

Nach der Hirmerschen Auffassung würde die Bezeichnung „Spirotristichie' nur im beschreibenden Sinn zu verstehen sein, während es sich tatsächlich um eine modifizierte Spirodistichie handelte. Er unterscheidet wie folgt (S. 46): „Was die Stellungen hier (Spirotristichie) von den oben besprochenen (Spirodistichie) unterscheidet, ist, daß hier nicht wie dort als Endresultat der Entwicklung eine relativ gleichmäßige Zerstreuung der primär zweizeilig stehenden Blätter über die ganze Sproßperipherie erfolgt, daß vielmehr hier das Endresultat der Entwicklung die Beschränkung der Blattstellung auf 3 organogenetisch wirksame Zeilen ist. Die Stellung kommt damit tatsächlich der dreizeiligen der alten Autoren gleich; nur die primäre Entstehung ist aus der Distichie herzuleiten."

Wir fragen nun, ob es nicht — falls schon von „3 organogenetisch wirksamen Zeilen" gesprochen wird — den Gegebenheiten mehr entspricht, wenn man annimmt, daß der Übergang zur dreiseitigen Symmetrie des Vegetationspunktes mit einer *tatsächlichen entsprechenden Vermehrung der Blastostichen* verbunden ist. Nach dieser Auffassung würden an Stelle des die anfängliche Spirodistichie fortsetzenden vierten Blattes 2 Primordien, nämlich 4 und 5, fast gleichzeitig am Vegetations-

punkt ausgegliedert. Sie würden zusammen mit Blatt 3 die Anfänge der 3 Blattspiralen darstellen, die sich deutlich im Querschnitt abzeichnen (Abb. 6, *II*). Die Divergenzen zwischen den Gliedern einer solchen Stiche schwanken nur geringfügig um einen Mittelwert von 60°. Das würde bedeuten, daß bei der Blattstellung der Plumula von *Stratiotes aloides eine ontogenetisch aus Spirodistichie sich entwickelnde echte Spirotristichie* vorliegt. Die Möglichkeit, daß es sich in anderen Fällen dreizeiliger Organstellung tatsächlich um sekundäre auf disticher Schraubung beruhende Strukturen handelt, wird nicht bestritten.

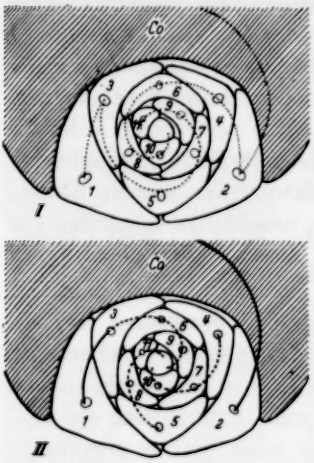


Abb. 6. Halbschematischer Querschnitt durch die Plumula von *Stratiotes aloides* mit Einzeichnung der Blastostichen nach der Spirodistichie- (*I*) und der Spirotristichie- (*II*) Theorie.

d) Die vom normalen Verhalten abweichenden Stellungsverhältnisse der Plumula. Es bleibt nun noch zu untersuchen, welche Aufschlüsse die 17 vom normalen Verhalten abweichenden Embryonen geben. Erhebliche Unterschiede wurden nur in 6 Fällen beobachtet, während es sich 11mal lediglich um Umkehrungen der Torsionsrichtung innerhalb der Knospe handelte. Solche sind gerade durch die Zusammenscharung von je drei kurz hintereinander am Vegetationspunkt ausgegliederten Primordien leicht möglich, so vor allem bei dem zweiten und dritten Glied einer Dreiergruppe, während das erste in seiner Stellung gegenüber dem letzten der vorhergehenden Einheit ziemlich konstant ist. Durch einen solchen Platzwechsel schon zwischen Blatt 4 und 5 kommt eine Stellung zustande, bei der die Verfolgung der beiden Spirostichen ohne den oben geschilderten Richtungswechsel der Spirale möglich ist wie in Abb. 7, *I*. Trotzdem erscheint es auch hier richtig, von einer spätestens mit der zweiten Dreiergruppe einsetzenden Dreizeiligkeit zu sprechen.

Das wird vor allem nahegelegt durch den Vergleich mit der Blattanordnung, die 2 etwas unterentwickelte Plumulae auszeichnete, bei denen die Einschiebung der dritten Stiche offenbar unterblieben ist (Abb. 7, *II*). Sämtliche Primordien sind in 2 regelmäßigen Spiralen angeordnet, und die durchgehende Zweizeiligkeit äußert sich auch in einer deutlichen größenmäßigen Paarung der Blattorgane. Vermutlich handelt es sich um eine Hemmungsbildung.

Schließlich müssen noch 4 besonders aufschlußreiche Varianten beschrieben werden, bei denen das erste Laubblatt in der Entwicklung vorausgeeilt und dem Keimblatt mehr oder weniger vollkommen oppo-

niert war (Abb. 8). Am ausgeprägtesten war diese Abnormität bei dem in Abb. 9, *I—III* in einer Querschnittfolge dargestellten Exemplar. Blatt 1 steht, wenigstens in dem basalen Schnitt (*III*), dem Kotyledo genau gegenüber, während es in seinem oberen Teil von der wachsenden Plumula sekundär zur Seite gedrängt ist. Die Blätter 2 und 3 nehmen die Stellung ein, die in der normalen Knospe dem ersten und zweiten Blatt zukommt, so daß die erste Dreiergruppe sich aus den Primordien 4, 5 und 6 zusammensetzt. Diese Gruppierung zeigt auch die Längenkurve der Primordien in Abb. 8, *II*.

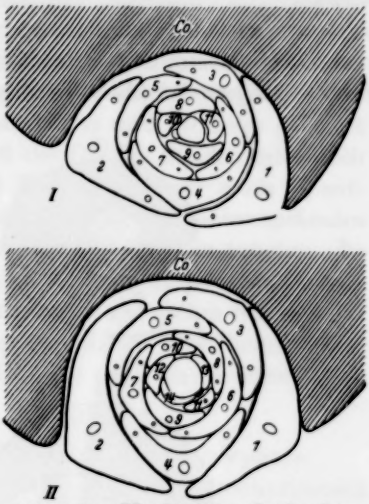


Abb. 7 *I* u. *II*. *Stratiotes aloides*, Querschnitte durch die Plumulae abweichend gebauter Embryonen.

Zwei Deutungsmöglichkeiten bieten sich an. Man könnte entweder vermuten, daß es sich um eine teratologische Zwillingsbildung handelt, bei der 2 Kotyledonen eine gemeinsame Plumula besitzen, oder man müßte annehmen, daß das erste Blatt normalerweise abortiert, daß also das zweite und dritte Blatt der Variante dem ersten und zweiten der normalen Embryonen homolog sei.

Beiden Deutungen widerspricht die Tatsache, daß es alle *Übergänge zwischen der Extremform und der normalen Ausbildung* gibt. Aus Zwischenformen wie der in Abb. 9, *IV—VI* dargestellten geht eindeutig hervor, daß das in Stellung und Größe maximal abweichende erste Laubblatt mit dem ersten Blatt der normalen Plumula homologisiert werden muß. Die Bedeutung dieser Feststellung wird sich erweisen bei dem Versuch, die Keimlingsblattstellung von *Stratiotes* und anderen Hydrocharitaceen vergleichend morphologisch als Abwandlungen des typischen Monokytolenverhaltens zu verstehen.

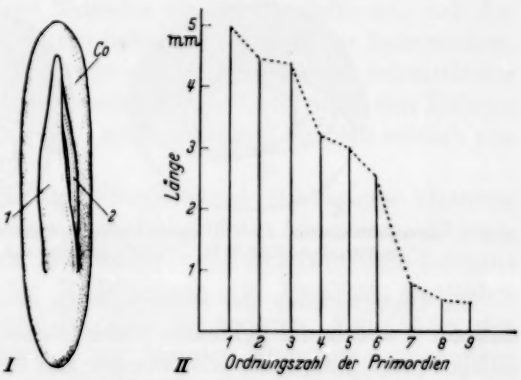


Abb. 8. *Stratiotes aloides*, Embryo mit opponiertem erstem Blatt, Aufsicht (*I*) und Längenkurve der Primordien (*II*).

e) Vergleich mit den Stellungsverhältnissen der erwachsenen Pflanze. Bei MONTESANTOS (1913) findet sich folgende Angabe über die Blattstellung von *Stratiotes*: „In 2 Spirallinien sind auch die Blätter von *Stratiotes aloides* angeordnet und zwar so dicht nebeneinander, daß erst das 17. Blatt auf das erste fällt, welche Anordnung PAUL SCHENKE merkwürdigerweise als $^1/_3$-Divergenz angesehen hat."

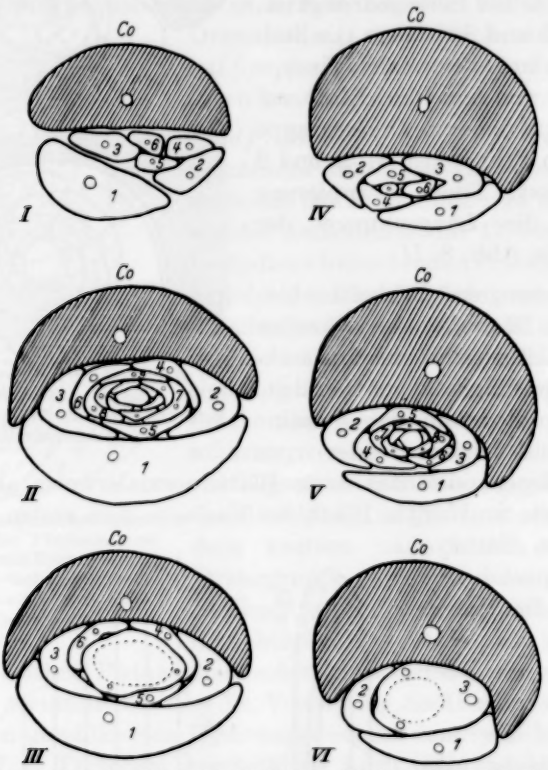


Abb. 9. *Stratiotes aloides. I—III* Querschnittserie durch die Plumula eines Embryos mit opponiertem Kotyledo; *IV—VI* dasselbe bei einer Übergangsform.

Die Untersuchung der Seitenknospen erwachsener Pflanzen ergab, daß auf 4 annähernd gekreuzte Paare bildende Schuppenblätter Blattanlagen folgen, die mehr oder weniger klar erkennbar in 6 Orthostichen bzw. 3 Spirostichen angeordnet sind, so daß die zurückgewiesene Beobachtung PAUL SCHENKES nur bestätigt werden kann.

Unter dieser Voraussetzung gewinnt aber eine weitere Angabe MONTESANTOS' Bedeutung, daß nämlich die Knospen sich „in der Achse der Blätter 1, 7, 13, 19 . . ." befinden. Eine Nachprüfung hatte das gleiche Ergebnis. Damit würde der Dreierrhythmus der Spirotristichie sich ebenso in der Verteilung der „fertilen" Blätter spiegeln, wie bei der

Spirodistichie von *Najas* und anderen die Blattpaarung mit Fertilität jedes zweiten Blattes parallel geht.

Man wird also nicht fehlgehen, wenn man die Beibehaltung der Keimlingstristichie auch von den Organen der erwachsenen Pflanze behauptet. Sie setzt sich sogar bis in die Blüte hinein fort, wozu folgender Passus bei EICHLER (1875) zitiert sei: „Die Entwicklungsgeschichte, welche ROHRBACH von beiden Geschlechtern der *Hydrocharis* und *Stratiotes* geliefert hat, zeigt das interessante Factum, daß die Glieder in allen oder doch den ersten beiden Quirlen (Kelch und Krone) sukzessiv nach $^1/_3$ entstehen, *das erste jedes neuen Quirls allemal dem letzten des vorausgehenden diametral gegenüber.* Wenn man hiernach versucht sein möchte, die Quirle als zusammengezogene Spiralen zu betrachten, so stimmt doch die Entstehungsfolge nicht mit dem SCHIMPER-BRAUNschen Schema für 3zählige Blüten überein" (Auszeichnung von mir!). Was EICHLER hier vom Perianth feststellt, gilt in vollem Umfang auch für die Primordien der Plumula von *Stratiotes*.

3. Vergleichende Betrachtung der Hydrocharitaceen-Embryonen.

Bekanntlich findet man durchaus nicht bei allen Hydrocharitaceen Keimlinge mit nach dem Muster von *Enalus* und *Stratiotes* transversal zum Kotyledo orientierter Knospe. Möglicherweise gehört noch *Vallisneria spiralis* in diese Reihe, von der VON VEH und ECKARDT angeben, daß nach einigen Unregelmäßigkeiten der Knospenhüllblätter regelmäßig jedes dritte Blatt fertil sei. ECKARDT, der spirotrophe Zweizeiligkeit voraussetzt, führt diese Tatsache als Beweis dafür an, daß der Fertilitätsrhythmus nichts zu tun habe mit der Zahl der Spirostichen. Vielleicht liegt auch hier Tristichie vor, wenn auch die Schnittbilder nicht dafür sprechen. Ein transversaler Längsschnitt durch den Embryo von *Vallisneria* bei WITMER (1937) zeigt das erste Laubblatt seitlich von der Mediane des Keimblattes.

Dagegen findet man bei den Stratiotoideae *Hydrocharis* (IRMISCH 1859 und VON VEH), *Hydromystria* (VON VEH), *Limnobium* (MONTESANTOS) und *Ottelia* (HIRMER, MONTESANTOS und ECKARDT) eine durchaus zweizeilige Spirotrophie der Beblätterung mit Fertilität sämtlicher Glieder einer Spirostiche und Sterilität der anderen. Von *Ottelia alismoides* und *Hydrocharis morsus ranae* konnten Embryonen geschnitten werden, und von *Limnobium* gibt MONTESANTOS eine Abbildung des Keimlings, in jedem Fall ist das erste Blatt dem Kotyledo opponiert und auch das zweite setzt die Anfangsdistichie noch fort. Nach einem von HIRMER abgebildeten Querschnitt durch eine ältere Keimpflanze von *Ottelia* zeigt erst das vierte Blatt eine geringe die Spirodistichie einleitende Abweichung aus der medianen Lage.

Es erhebt sich nun die Frage: Haben wir hier bei systematisch nächstverwandten Pflanzen 2 typisch verschiedene Ausbildungsformen

des Embryos vor uns, oder läßt sich die eine als auf quantitativen Verschiebungen beruhende Abwandlung der anderen verstehen? Zu einer solchen Ableitung verhelfen die oben beschriebenen abnormen *Stratiotes*-Embryonen. Das Vorkommen einer lückenlosen Übergangsreihe von Keimlingen mit einem dem Kotyledo genau opponierten ersten Laubblatt zu den gewöhnlichen, bei denen dieses fast gleichzeitig mit dem zweiten in seitlicher Lage entsteht, gibt die Berechtigung, von Blatt 1 bei *Stratiotes* anzunehmen, daß es kongenital die Abweichung vollzogen hat, deren einzelne Schritte die Reihe der Abb. 9, *I—III*, 9, *IV—VI*, 7, *I* und 5, *I—III* wiedergibt. Es handelt sich also bei *Stratiotes um eine die distiche Anfangszone überspringende Spirodistichie, die normalerweise ebenso schnell durch Blastostichenvermehrung zu Spirotristichie wird.*

Während bei *Hydrocharis* etwa 3 Primärblätter distich stehen und die Spirodistichie sich über die ganze vegetative Beblätterung ausdehnt und erst mit der Perianthausgliederung zur Spirotristichie übergeht, drängt sich bei *Stratiotes* der grundsätzlich gleiche Vorgang auf die ersten 5 Blattorgane zusammen.

Kehren wir nun zur Blattstellung von *Enalus acoroides* zurück, von der die Arbeit ausgegangen war. Leider waren ebenso umfangreiche Untersuchungen wie bei *Stratiotes*, durch die auch eventuelle Varianten hätten erfaßt werden können, nicht möglich. Nach VON VEH haben die Gattungen der Thalassoideae (*Enalus* und *Thalassia*) als einzige Hydrocharitaceen durchgehend distiche Beblätterung. Ist diese Distichie gegenüber den Spiralstellungen der anderen als weniger abgeleitet im morphologischen Sinn anzusehen? Die Tatsache, daß sie in transversaler Lage zum Kotyledo einsetzt, und der Vergleich mit den Stellungsverhältnissen bei *Stratiotes* sprechen dagegen. Man könnte sich vorstellen, daß bei *Enalus* die Fortsetzung der wie bei *Stratiotes* mit Blatt 1 einsetzenden Schraubung unterbleibt infolge der den Torsionsprozeß abbremsenden zuerst bilateralen, dann dorsiventralen Achsensymmetrie. Danach würde die *Enalus*-Distichie der typischen Monokotylen-Distichie nicht näher, sondern ferner stehen als die Spiralstellung von *Stratiotes*.

Nach dem Gesagten ist es wohl nicht mehr nötig zu betonen, daß die an das Dikotylenverhalten erinnernde mit ihren ersten Blättern transversal zum Keimblatt orientierte Plumula keinesfalls als Hinweis dafür angesehen werden darf, daß normalerweise ein zweiter Kotyledo abortiert sei.

Zusammenfassung.

Abweichend vom Verhalten der meisten Monokotylen beginnt die Plumula einiger Vertreter der Helobiae mit 2 einander opponierten und seitlich von der Mediane des Kotyledos inserierten Blättern. Bei *Enalus acoroides* wird die transversale Keimlingsdistichie an der Beblätterung der erwachsenen Pflanze beibehalten.

Bei *Stratiotes aloides* folgen in der Mehrzahl der Fälle (42 von 48) auf die beiden ersten Laubblätter alternierende Scheinwirtel von je 3 Primordien.

Diese $^1/_3$-Stellung wurde als Sonderform einer spirotrophen Zweizeiligkeit beschrieben, zutreffender ist die Annahme einer Blastostichenvermehrung, also einer *ontogenetisch aus Spirodistichie sich entwickelnden Spirotristichie*.

Dreizeilig ist auch die Anordnung der Laub- und Perianthblätter der erwachsenen *Stratiotes*-Pflanze. Jedes sechste Blatt trägt eine Achselknospe.

Die übrigen Stratiotoideae zeigen Fertilität jedes zweiten Blattes bei medianer Anfangsdistichie, Spirodistichie und Übergang zu Dreizeiligkeit in der Blüte.

Grundsätzlich dieselbe Stellungsfolge ist bei *Stratiotes* auf die ersten 5 Primordien zusammengedrängt. Diese Deutung wird bestätigt durch 6 abweichend ausgebildete Embryonen mit gedreht zweizeiliger Anordnung der Primordien bzw. größenmäßigem Überwiegen des im Extremfall dem Kotyledo opponierten ersten Blattes gegenüber dem zweiten.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich für ihre Unterstützung, die die Untersuchung ermöglichte.

Literatur.

Eckardt, Th.: Über zweizeilige Wirtelstellungen bei den Monokotylen. Bot. Archiv **42**, 44 (1941). — Eichler, A. W.: Blütendiagramme. Leipzig 1875. — Goebel, K.: Morphologische und biologische Bemerkungen. 21. Scheinwirtel. Flora (Jena) **105**, 71 (1912). — Organographie der Pflanzen, 3. Aufl. Bd. I. Jena 1928. — Hirmer, M.: Zur Lösung des Problems der Blattstellungen. Jena 1922. — Irmisch, Th.: Bemerkungen über einige Wassergewächse. Bot. Ztg **42**, 353 (1859). — Beitrag zur Naturgeschichte des *Stratiotes aloides*. Flora (Regensburg) **48**, 81 (1865). — Kausik, S. B.: A contribution to the embryology of *Enalus acoroides* (L. fil.), Steud. Proc. Indian Acad. Sci. B **11**, 83 (1940). — Montesantos, N.: Morphologische und biologische Untersuchungen über einige Hydrocharideen. Flora (Jena) **105**, 1 (1913). — Plantefol, L.: La théorie des hélices foliaires multiples. Ann. Sci. Nat. Bot., XI. sér. **7/8** (1946/47). — La Phyllotaxie. Ann. Biol. **26**, 447 (1950). — Schlickum, A.: Morphologischer und anatomischer Vergleich der Kotyledonen und ersten Laubblätter der Keimpflanzen der Monokotylen. Bibliotheca Botanica H. 35. Stuttgart 1896. — Souèges, M. R.: L'Embryon chez le *Sagittaria sagittaefolia* L. Ann. Sci. Nat. Bot., X. sér. **13**, 353 (1931). — Svedelius, N.: On the life history of *Enalus acoroides*. Ann. Roy. Bot. Gard. Peradeniya **2**, 267 (1904). — Troll, W.: Botanische Mitteilungen aus den Tropen II. Zur Morphologie und Biologie von *Enhalus acoroides* (Linn. f.) Rich. Flora (Jena) **125**, 427 (1931). — Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. I/1, S. 418. Berlin 1937. — Veh, R. v.: Untersuchungen und Betrachtungen zum Blattstellungsproblem. Flora (Jena) **125**, 83 (1931). — Witmer, S. W.: Morphology and cytology of *Vallisneria spiralis* L. Amer. Naturalist **18**, 309 (1937).

Priv.-Doz. Dr. Barbara Haccius, Mainz, Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 40, S. 346—349 (1952).

Kurze Mitteilung.

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

ÜBER EINE PHYSIOLOGISCHE UMSTIMMUNG VON SONNENBLUMENSTENGELGEWEBE DURCH DAUEREINWIRKUNG VON β-INDOLYLESSIGSÄURE.

Von

OTTO KANDLER.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 7. September 1951.)

GAUTHERET (1942) beobachtete zum ersten Male, daß pflanzliches Gewebe bei Kultur auf künstlichen Nährböden im Laufe der Kulturdauer durch Zusatz starker β-Indolylessigsäure-Konzentrationen (IES) ihr Reaktionsvermögen gegenüber IES stark verändern. Während bei Geweben von Topinambur, Endivie, Kohlrabi und Schwarzwurzel die für die Wachstumsanregung optimale Konzentration bei 100 mg/Liter lag, erwiesen sich nach einigen Passagen 0,1 mg/Liter als optimal. Stärkere Konzentrationen hemmten nunmehr das Wachstum. Anders verhielt sich Karottengewebe, das seine Reaktionsfähigkeit gegenüber IES gänzlich verlor. Gleichzeitig damit schwand auch die Fähigkeit der Wurzelbildung. Später berichtete GAUTHERET (1948), daß auch bei Schwarzwurzelgewebe eine vollständige „Anpassung" erzielt wurde und das neue Gewebe äußerlich vollständig dem gleichzeitig kultivierten durch *Bacterium tumefaciens* erzeugten Tumorgewebe glich. Es wurde daher vermutet, daß die Dauereinwirkung der IES zu einer gewissen Tumorisierung führt, und die unter diesem Gesichtspunkt ausgeführten Pfropfversuche (CAMUS und GAUTHERET 1948) zeigten tatsächlich, daß dieses Gewebe ähnlich wie das Tumorgewebe nach der Reimplantation autonom weiterzuwachsen vermag, während dies beim Normalgewebe nicht der Fall ist. Allerdings wies es eine geringere Wachstumsintensität als echtes Tumorgewebe auf. In einer weiteren Arbeit untersuchten KULESCHA und GAUTHERET (1948) den Auxingehalt der 3 verschiedenen Gewebetypen und auch hier ergab sich für das umgestimmte Gewebe eine Mittelstellung zwischen Normalgewebe mit niederem und Tumorgewebe mit hohem Auxingehalt. Eine Bestätigung der Befunde GAUTHERETs konnte sein Schüler MOREL (1947) beibringen, der bei Kulturen von Weinrebengewebe durch Zusatz von α-Naphthylessigsäure ebenfalls eine Sensibilisierung erzielen konnte. Außerdem beobachtete er auch das gelegentliche Auftreten meristematischer Gewebebezirke, die gegen den Wuchsstoff unempfindlich waren. Ein einziges Stück

erwies sich bei Weiterkultur auf wuchsstofffreiem Nährboden als völlig unabhängig von jeder Wuchsstoffzufuhr und wurde Ausgangsmaterial für einen Klon, der in neuerer Zeit von BRAUN und MOREL (1950) zu Pfropfversuchen verwendet wurde. Auch dieses Gewebe nahm in bezug auf seine Fähigkeit zu autonomem Wachstum eine Mittelstellung zwischen dem nur Wundschorf bildenden Normalgewebe und dem desorganisiert wuchernden Tumorgewebe ein. In neuester Zeit untersuchte GALSTON (1951) den Katalasegehalt der 3 verschiedenen Gewebetypen von *Scorzonera*, *Vitis vinifera* und *Parthenocissus cuspidata* und fand in allen Fällen, daß das umgestimmte Gewebe zwischen dem Tumorgewebe mit niederem Katalasegehalt und dem Normalgewebe mit hohem vermittelt.

An den eigenen, kürzlich beschriebenen Gewebekulturen von *Helianthus annuus* (KANDLER 1950) konnten inzwischen ähnliche Beobachtungen gemacht werden, die im folgenden kurz mitgeteilt werden sollen. Ein am 22. 9. 48 isoliertes Stengelgewebestück zeigte unter den beschriebenen Bedingungen (1 mg IES und 10 mg Pepton je Liter) zunächst gutes Wachstum und sehr reichliche Wurzelbildung. Im Laufe der Zeit nahm der Zuwachs immer mehr ab und die Unterteilungen konnten nur mehr in unregelmäßigen Abständen vorgenommen werden. Am 14. 5. 50 trat auf einem Exemplar des inzwischen auf über 100 Einzelstücke angewachsenen Klons ein rein weißer rasch wachsender Kallus von fast kugeliger Gestalt auf. Im Gegensatz zu dem gewöhnlich gebildeten neuen Gewebe, das mit breiter Basis kuppenartig dem alten Gewebe auflag, berührte dieser Kallus das Muttergewebe nur an einer sehr schmalen Stelle. Angeregt durch die erwähnten Versuche GAUTHERETs wurden nun alle Gewebe einschließlich des abgetrennten Kallus auf Nährböden ohne IES und Pepton übertragen. Schon nach 4 Wochen konnte der weiter herangewachsene Kallus in 4 Teile zerschnitten werden, während alle übrigen Gewebe keinen oder nur geringen Zuwachs zeigten. Am 1. 12. 50 bestand der neue Klon bereits aus 50 Einzelstücken, die übrigen Gewebe dagegen waren endgültig abgestorben und wurden nicht mehr weiter übertragen.

Besonders auffällig am Verhalten der neuen Kulturen war das Fehlen der für Normalgewebe charakteristischen Wurzelbildung. Ob die Fähigkeit dazu völlig verlorengegangen war wurde dadurch geprüft, daß jedes Stück in 2 Teile geteilt und jeweils einer davon auf einen Nährboden mit Zusatz von 10 mg IES je Liter gesetzt wurde. Nach 4 Wochen zeigte sich nicht nur keine Wurzelbildung, sondern auch keinerlei andere Wachstumsverschiedenheit gegenüber den auf wuchsstofffreiem Nährboden kultivierten Parallelproben. Auch eine zweite Passage mit teilweisem Wuchsstoffzusatz ergab keine Unterschiede. Seither wurden die Kulturen wieder alle auf dem einfachen Standard-

nährboden ohne besondere Zusätze weitergeführt und sie zeigen bis heute keine Abnahme der Wachstumsintensität, die allerdings starke Schwankungen aufweist.

Wie die anatomische Untersuchung des umgestimmten Gewebes zeigt, besteht es zum größten Teil aus parenchymatischen Zellen, zwischen die einzelne Tracheidengruppen eingestreut sind. Letztere sind allerdings weniger häufig als bei dem früher beschriebenen Normalgewebe. Ein wesentlicher Unterschied zu diesem ergibt sich bei

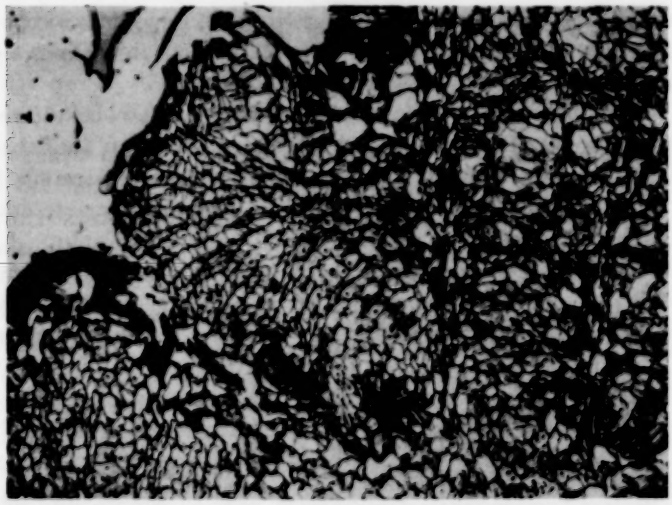


Abb. 1. Medianer Längsschnitt durch einen jungen Kallus. Rechts oben eine Tracheidengruppe mit großen Zellen. Tüpfel in den Membranen schwach erkennbar. (Färbung mit Hämatoxylin nach DELAFIELD.)

Berücksichtigung der Entstehungsweise des Neuzuwachses. Schon die makroskopische Betrachtung des Gewebes zeigt, daß es aus lauter mehr oder weniger kugeligen Kalli zusammengesetzt ist, die vielfach schon beim Berühren mit der Impfnadel auseinanderfallen. Die älteren Teile besitzen eine braune Färbung, die aus ihnen hervorbrechenden jungen Kalli dagegen sind rein weiß. Abb. 1 zeigt einen medianen Längsschnitt durch einen kleinen Kallus. Dabei ist deutlich ersichtlich, daß die Zellen in radialen Reihen angeordnet sind, die alle auf einen bestimmten Zellkomplex in der Nähe einer Tracheideninsel zusammenlaufen. Die Tracheiden sind in der Abbildung rechts oben als größere Zellen mit von Tüpfeln durchbrochenen Zellwänden erkennbar. Die schwarzen Zonen am Geweberand sind durch anhaftende Agarreste, die mitgeführt wurden, verursacht.

Die Durchmusterung mehrerer Schnittserien ergab, daß mit großer Regelmäßigkeit an der Basis jeden neuen Kallus eine Tracheidengruppe zu finden ist, und daß im Laufe der weiteren Entwicklung jeweils in der 5.—10. Zellschicht unter der Gewebeoberfläche die Ausbildung neuer

Tracheiden erfolgt. Es hat den Anschein, als ob die Mehrzahl der Zellen nicht unbegrenzt teilungsfähig bliebe, sondern unter Verfärbung bis zu einem tiefen Braun abstürbe. Nur eine oder wenige Zellen in der Nähe der Tracheiden sind in der Lage, einen neuen Kallus zu bilden. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß bei starker Unterteilung der Einzelstücke nicht alle Teile weiterwachsen, sondern daß ein Anteil von etwa 20% das Wachstum vollständig einstellt. Auf keinen Fall wachsen alte, zentrale Teile eines längere Zeit ungeteilt gebliebenen Exemplares, von dem man alle neugebildeten Kalli entfernt hat, weiter.

Die bei der Kallusbildung anscheinend herrschende Zufälligkeit erinnert stark an mutative Vorgänge oder an Entmischungserscheinungen, wie sie der Entstehung panaschierter Blätter zugrunde liegen. Analog den defekten und intakten Chloroplasten im Falle der Panaschüre müßten hier Zellorganelle (z. B. Mitochondrien) als Träger veränderlicher Fermentsysteme angenommen werden. Die autonomes Wachstum bedingenden umgestimmten Fermentsysteme würden ursprünglich durch die Einwirkung verschiedener Stoffe (IES, α-Naphtylessigsäure) hervorgerufen und kämen je nach dem Grade ihrer Vermischung mit den unveränderten zur Wirkung. Um eine präzisierte Vorstellung zu entwickeln, reichen die bis jetzt gesammelten Beobachtungen noch nicht aus. Sicher erscheint bisher nur, daß durch die Einwirkung von IES tatsächlich eine tiefgreifende physiologische Umstimmung des in vitro kultivierten Pflanzengewebes erfolgen kann, die sich sowohl in der Unabhängigkeit des neuentstehenden Gewebes von der Wuchsstoffzufuhr, als auch im Verlust der Fähigkeit zur Wurzelbildung und in einer anderen Wachstumsweise ausdrückt.

Literatur.

Braun, A. C., and G. Morel: Amer. J. Bot. **37**, 499 (1950). — Camus, G., et R. Gautheret: C. r. Acad. Sci. Paris **226**, 744 (1948). — Galston, M. A. W.: C. r. Acad. Sci. Paris **232**, 1505 (1951). — Gautheret, R.: C. r. Acad. Sci. Paris **226**, 170 (1948). — Bull. Soc. Chim. biol. Paris **24**, 13 (1942). — Kandler, O.: Planta (Berl.) **38**, 564 (1950). — Kulescha, Z., et R. Gautheret: C. r. Acad. Sci. Paris **227**, 292 (1948). — Morel, G.: Co. r. Soc. Biol. Paris **141**, 280 (1947).

Dr. O. Kandler, München 38, Menzingerstr. 67,
Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 40, S. 350—376 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

BEITRÄGE ZUR ENTWICKLUNGSGESCHICHTE DER SCHILDBLÄTTER.

Von

INGRID ROTH.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Oktober 1951.)

Da bereits in einer früheren Arbeit (ROTH 1949) gezeigt werden konnte, daß die Ausbildung medianer Stipulation bei Blättern nicht von der von TROLL geforderten „Unifazialität" abhängig, sondern auf ganz andere Ursachen zurückzuführen ist, schien es notwendig, das Zustandekommen der Peltation ebenfalls einer neuen eingehenden Prüfung zu unterziehen.

TROLL (1932 und 1939) nimmt an, daß die Anlage einer schildförmigen Spreite — genau wie die einer Medianstipel — am Primordium nur dann möglich ist, wenn an dessen Blattstiel die morphologische Oberseite von vornherein („kongenital") unterdrückt wird. Diese „Unterdrückung" der Blattoberseite wäre demnach an keinem noch so jungen Entwicklungsstadium mehr zu verfolgen, sondern muß rein aus den vorliegenden anatomischen Verhältnissen erschlossen werden. Aus dieser Annahme ergibt sich die Forderung, daß alle Blattstiele der Schildblätter eine kreisförmige Leitbündelverteilung aufweisen müssen. Daß die mit Medianstipeln versehenen Blätter nur in wenigen Ausnahmen eine kreisförmige Leitbündelanordnung im Stiel erkennen lassen, konnte bereits in obengenannter Arbeit dargetan werden; aus den dort gebrachten Abbildungen geht mit Deutlichkeit hervor, daß die meisten Stiele medianstipulierter Blätter im Gegenteil schon auf Grund ihrer Leitbündelanordnung im offenen Bogen als bifaziale Blatteile angesprochen werden müssen. Noch auffälliger wird diese Tatsache durch das Studium der Entwicklungsgeschichte; alle mit Medianstipeln versehenen Blätter gehen nämlich — nach eigenen Untersuchungen — aus vollkommen bifazialen Primordien hervor, an denen im allgemeinen die Ober- wie Unterseite begrenzenden Blattränder deutlich zu verfolgen sind. Die massiven, zylindrischen Blattabschnitte (von TROLL „unifazial" genannt) kommen erst sekundär durch die Tätigkeit eines Ventralmeristems zustande.

Aus diesen Gründen interessierte zunächst, wie es sich mit dem anatomischen Bau der Stiele von peltaten Blättern verhielte und ob auch hier Abweichungen von der kreisförmigen Leitbündelverteilung zu finden

wären, obwohl dem Leitbündelverlauf im Hinblick auf morphologische Deutungen keine zu große Beweiskraft beigemessen werden darf.

I. Anatomischer Bau der Blattstiele schildförmiger Blätter.

Die Mehrzahl der untersuchten Stiele peltater Blätter lassen allerdings eine Leitbündelanordnung im Kreis erkennen. Bei den im folgenden aufgeführten Pflanzen fand ich 1—2 Leitbündelkreise im Stielquerschnitt vor, außerdem aber auch noch häufig zerstreute Bündel in der Stielmitte. Die Querschnitte der Stiele ausgewachsener Blätter waren mehr oder weniger kreisrund, die der Scheiden dagegen deutlich abgeflacht mit einer Leitbündelverteilung im offenen Bogen.

Mit einem einzigen Leitbündelring im Stiel waren versehen: *Geranium macrorhizum*, *Stephania hernandiaefolia*, *Menispermum dahuricum*, *Ricinus communis*, *Tropaeolum majus*, *Victoria regia*, *Pachira insignis*, peltate Blätter von *Ulmus*-Schößlingen (die beiden letzteren mit einem geschlossenen Leitbündelzylinder); ein bis mehrere zerstreute Bündel außer dem peripheren Leitbündelring fanden sich in der Stielmitte bei *Hydrocotyle umbellata*, *Pelargonium peltatum*, *Podophyllum peltatum*, *P. Emodi*, *Diphylleia cymosa*, *Saxifraga peltata*, *S. tellimoides*, *Rodgersia tabularis* (mit 1—2 Bündelkreisen). Ferner ergab sich unter den Monocotylen bei allen peltaten *Araceen* ein kreisförmiges Querschnittsbild der Stiele — gewöhnlich mit einem peripheren Bündelkreis und vielen zerstreut angeordneten Leitbündeln in der Stielmitte.

Zwei Leitbündelkreise wiesen auf: *Begonia incana*, *Ceiba pentandra* (innerer Kreis invers, Xylem exoskop), *Rodgersia Purdomi*, *Rodgersia podophylla* (bei den beiden letztgenannten Pflanzen zusätzlich zerstreute Bündel in der Stielmitte).

Daß es hiervon aber auch Abweichungen im Stielbau peltater Blätter gibt, bemerkt schon Troll (1939) bei *Peperomia arifolia* und *Passiflora vespertilio*, wo im Stiel der Primärblätter kein Leitbündelkreis vorliegen soll. Auch *Asteropyrum peltatum* besitzt nur 3 Bündel im Stiel und keinen Ventralmedianus (Troll 1932, S. 233).

Anders geartet sind wiederum Fälle, die im folgenden besprochen werden sollen: Schon beim Studium der Leitbündelverteilung in Stielen von medianstipulierten Blättern konnte ich beobachten, daß sich oft bereits im Unterblatt (das ja nach Troll auf alle Fälle bifazial sein muß) ein Bündelring mit allseits endoskopen Xylemen vorfand, der sich natürlich kontinuierlich in den Stiel hinein fortsetzte und so „Unifazialität" vortäuschte (Roth 1949, Abb. 2, Fig. 5: *Anemiopsis californica*). Ähnliche Verhältnisse konnten bei Stielen von Schildblättern mehrmals gefunden werden: *Begonia conchifolia* beispielsweise weist im Stiel einen einheitlichen Leitbündelkreis auf; dieser ist aber bereits im Unterblatt vorhanden, und wir haben daher keine Berechtigung, hier auf Grund

der Leitbündelanordnung von einem „unifazial" gebauten Blattstiel zu sprechen. Dieselbe Art der Innervierung findet man bei *Podophyllum Emodi*, wo sich ebenfalls bereits in der Scheide ein Leitbündelring (mit nach innen gekehrten Xylemen) vorfindet; auch bei *Diphylleia cymosa* verhält es sich ganz ähnlich. Besonders deutlich kann man aber an gut entwickelten Grundblättern von *Lupinus polyphyllus* den Leitbündelkreis des Stieles bis in den Blattgrund hineinverfolgen (Abb. 1, Fig. 3 und 4).

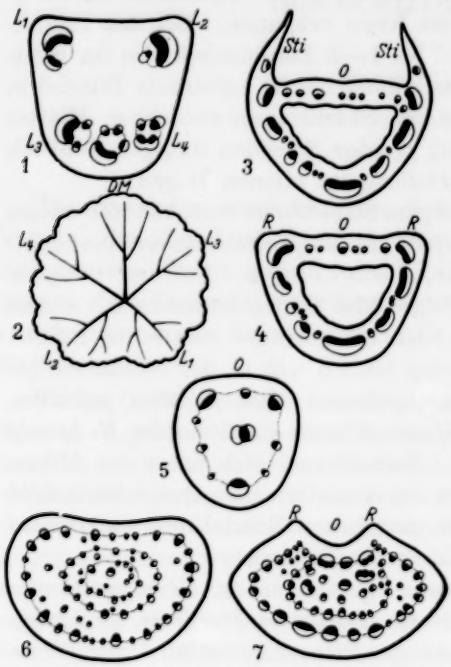


Abb. 1. Fig. 1 Querschnitt durch den Blattstielkopf von *Pelargonium zonale* (L_{1-4} die Lateralnerven, *DM* der Dorsalmedianus). Fig. 2 Spreite von *Pelargonium zonale*. Fig. 3 Querschnitt durch den Blattgrund von *Lupinus polyphyllus* (unterhalb der seitlichen Stipeln *Sti*). Fig. 4 Querschnitt durch die Stielbasis von *Lupinus polyphyllus* oberhalb der Stipeln. Fig. 5 Querschnitt durch die Stielmitte von *Pelargonium zonale*. Fig. 6 *Rodgersia sambucifolia*, Stielquerschnitt oberhalb der rudimentären Medianstipel. Fig. 7 *Rodgersia sambucifolia*, Querschnitt durch die Rhachis oberhalb des ersten Fiederpaares. *O* Blattoberseite, *R-R* die sie begrenzenden Stielränder.

Dagegen weist zwar die Scheide von *Rodgersia sambucifolia* ein einwandfrei „bifaziales" Querschnittsbild auf, während der Stiel 2—3 deutliche Bündelringe besitzt — meist mit zerstreuten Bündeln in der Mitte (Abb. 1, Fig. 6); hier setzen sich aber dieselben Bündelringe mit jeweils endoskopen Xylemen in die Rhachis hinein fort. Abb. 1, Fig. 7 zeigt einen Querschnitt durch die Rhachis oberhalb des ersten Fiederpaares, wo man allerdings unter allen Umständen mit Bifazialität zu rechnen hat. Einen weiteren Ausnahmefall bildete der Stiel des Blattes einer Zimmerpelargonie (*Pelargonium zonale*), die ein wohlausgebildetes Schildblatt besaß. Der Stiel wies hier nämlich etwa in der Mitte seiner vollen Höhe nebst einigen zentralen Bündeln einen Leitbündelring auf (Abb. 1, Fig. 5), der sich jedoch am Blattstielkopf in 5 Bündelgruppen öffnete (Abb. 1, Fig. 1), so daß etwa 3 Gruppen auf die Dorsalseite zu liegen kamen und 2 an die beiden Flanken; diese Art der Bündelanordnung — bei der ein Ventralmedianus fehlt — ist gut zu verstehen bei Kenntnis der Innervierung der Spreite; es finden sich nämlich auch in der Spreite 5 Hauptnerven (Abb. 1, Fig. 2), die somit die direkte Fortsetzung der 5 Bündelgruppen des Blattstielkopfes darstellen.

Der umgekehrte Fall ist bei *Saxifraga tellimoides* (= *Boykinia tellimoides*) gegeben; hier findet man nämlich am Blattstielkopf kreisförmige Leitbündelverteilung, während der Bündelbogen in der Stielbasis oberhalb der Medianstipel, wo wir nach TROLL doch ebenfalls „Unifazialität" zu erwarten hätten, noch offen ist; dasselbe Querschnittsbild, wie es der Stiel oberhalb der Medianstipel aufweist, ergibt sich auch im Blattgrund. Bei Besprechung des Stielbaues medianstipulierter Blätter war bereits zu erwähnen gewesen, daß sich im Stiel von *Peperomia incana* ebenfalls ein Bündelbogen oberhalb der Medianstipel findet, während sich dieser erst gegen den Blattstielkopf hin zu einem Kreis schließt. Endlich sei noch *Drosera pygmaea* als Beispiel genannt, bei der TROLL auf Grund ihrer schildförmigen Spreite kreisförmige Leitbündelanordnung im Stiel vermutet hatte; wie ich aber schon früher erwähnte (ROTH 1949, Abb. 4, Fig. 18), ist hier nur ein einziges Bündel im Stiel vorhanden, was wohl mit der zarten Ausbildung des Stielbaues zusammenhängen dürfte.

Gerade diese letzten Beispiele deuten schon darauf hin, *daß es sich bei der kreisförmigen Leitbündelverteilung im Stiel peltater Blätter nicht um ein morphologisch auswertbares Merkmal handelt, sondern daß sich auch hier die Leitbündelversorgung jeweils nach den mechanischen und physiologischen Bedürfnissen des Blattes richtet.* Schreibt doch TROLL selbst auf S. 298 seiner Schildblattarbeit, es sei ein alter Irrtum, daß der Leitbündelverlauf über die morphologische Bedeutung eines Organs entscheiden könne.

II. Entwicklungsgeschichte und morphologischer Bau peltater Blätter.

a) Zur Problemstellung.

Auf eine eingehende geschichtliche Darstellung des Problems kann in diesem Rahmen verzichtet werden, da sich bereits bei TROLL (1932 und 1939) eine erschöpfende Literaturbesprechung findet. Es soll hier lediglich die modernste und heute als allgemein gültig anerkannte Auffassung, so wie sie von TROLL ins Leben gerufen wurde, ins Auge gefaßt und von da aus die Problematik der Entwicklungsgeschichte schildförmiger Blätter beleuchtet werden.

TROLL sucht als erste Forderung das Schildblatt auf den gewöhnlichen Typus des bifazialen Blattes zurückzuführen; dies ist seiner Ansicht nach aber nur dadurch möglich, daß man den Begriff der „Unifazialität" einführt. Zwar sind nach TROLL (1939, S. 1770) „auch die Anlagen der Schildblätter anfänglich als Ganze bifazial und bieten sich zu dieser Zeit als flache Primordien mit zwei getrennt voneinander verlaufenden Rändern dar"; aber „das Oberblatt entwickelt sich in der Folge interkalar weiter, wobei vor allem der Stiel zur Anlegung gelangt, der stets von vornherein als unifaziales Organ von zylindrischer Gestalt in Erscheinung tritt". Wie wäre es aber möglich, daß an einem anfänglich

vollkommen bifazialen Primordium mit zwei getrennt voneinander verlaufenden Rändern plötzlich ein von vornherein unifazialer Stiel eingeschaltet werden soll? Betrachtet man nämlich ein Schildblattprimordium von *Colocasia antiquorum*, so erkennt man mit aller Deutlichkeit, daß hier die Stielzone noch als vollkommen bifazialer Blattabschnitt ausgebildet ist (Abb. 2, Fig. 14). Ebenso konnte schon früher bei Untersuchung der Primordien medianstipulierter Blätter festgestellt werden, daß diese in der ersten Entwicklung fast immer deutlich abgeflacht-bifazial ausgebildet sind und eine gewisse Abrundung, die man bei Unkenntnis jüngerer Stadien als „Unifazialität" betrachten könnte, erst später mit Hilfe eines Ventralmeristems erfahren. Den für die Schildblattbildung charakteristischen „Schildauswuchs", der die beiden Spreitenränder später auf der Ventralseite miteinander verbindet, sieht TROLL dagegen als sekundäres Merkmal an. Seiner Meinung nach ist also das Primäre und die Voraussetzung für Peltation überhaupt die Entstehung eines kongenital „unifazialen" Stieles.

b) Präparative Ergebnisse.

Eine wirkliche Erklärung der Schildblattbildung kann meinen Ergebnissen zufolge aber nur durch die Betrachtung der Entwicklungsgeschichte gegeben werden. Aus deren Studium geht eindeutig hervor, daß an dem seiner Anlage gemäß bifazialen Primordium durch eine neu entstehende Querwulstbildung am Spreitengrund eine Verbindung zwischen den beiden Blatträndern auf der Ventralseite hergestellt und diese Zone somit in das allgemeine Randwachstum mit einbezogen wird, wobei das sog. Ventralmeristem die Wulstbildung einleitet. Das Ventralmeristem ist aber bei Blättern des Normaltyps durchaus nichts Unbekanntes und Neues; es rundet beispielsweise viele Stiele ab — auch solche, deren Bifazialität im erwachsenen Zustand noch deutlich zu erkennen ist. Der Ausdruck *Ventral*meristem besagt ja schon, daß wir es mit einem bifazialen Organ, das der Träger dieses Meristems ist, zu tun haben müssen.

Wie die Präparation ergab, ist die Bildung eines Schildquerwulstes auf der Ventralseite der Primordien schildförmiger Blätter eine Parallelerscheinung zur Querwulstbildung medianstipulierter Blätter; ja, manchmal sind sogar beide Bildungen eng miteinander verknüpft. Übergänge von allmählicher Verschmelzung seitlicher Stipeln zur Medianstipel (s. *Drosera*-Typ, ROTH 1949) legten daher den Gedanken nahe, ob nicht ähnliche Verhältnisse bei der sog. „Verschmelzung" der Spreitenränder zum Schildauswuchs gefunden werden könnten?

Als ursprünglichster und phylogenetisch ältester Typ wäre daher wohl der zu betrachten, bei dem kein einheitlicher Querwulst am Spreitengrund angelegt wird, sondern wo die langsame Verschmelzung der

Blattränder zum Schildauswuchs noch zu beobachten ist. Direkt verwirklicht fand ich diesen Typus in der Natur nicht; wohl aber macht sich bei fast allen Primordien ein zunächst bevorzugtes (proleptisches) Wachstum der randlichen Partien geltend. An manchen Primordien von *Tropaeolum* z. B. kann man unter Umständen beobachten, wie die Wulstbildung vom 1. bzw. 2. Fiederpaar auf der Ventralseite nach innen zu fortschreitet. Parallel zur Stipelbildung von *Nymphaeaceen* ist auch hier (*Nelumbium speciosum* u. a.) bei der Schildblattbildung eine bevorzugte Querwulstbildung an den beiden Flanken des Primordiums zu erkennen. Zwischen Anlage eines einheitlichen Querwulstes und langsamer Verschmelzung der Blattränder sind im übrigen wohl keine deutlichen Grenzen zu ziehen, da sinngemäß zur selben Zeit bereits in diesem ganzen Bereich der Ventralseite die Zellen in Teilung begriffen sind. Das normale Verhalten, das sich bei den meisten peltaten Blättern präsentiert, ist also die Anlage eines einheitlichen Schildquerwulstes, dessen Bildung auf einen Anstoß seitens des Ventralmeristems zurückzuführen ist. Rein quantitativ bestehen aber trotz der Einheitlichkeit der Anlage hinsichtlich des Zeitpunktes der Querwulstbildung bedeutende Unterschiede.

Bei einer Gruppe von Primordialtypen wird nämlich der Schildauswuchs erst gebildet, wenn das Primordium schon relativ weit entwickelt ist — so bei den meisten peltaten Blättern und besonders deutlich bei *Araceen*; bei einer anderen entsteht er außerordentlich frühzeitig und eine weitere Gruppe nimmt etwa eine vermittelnde Stellung ein. Besonders interessant ist nun der Zeitpunkt des Erscheinens dieses Schildauswuchses bei medianstipulierten Blättern im Hinblick auf den Medianstipelquerwulst (handle es sich auch nur um eine rudimentäre Bildung, die später weiter nicht zur Ausbildung kommt).

Gruppe 1. Bei Angehörigen der 1. Gruppe, die den häufigsten Typus darstellt und beispielsweise von *Menispermum dahuricum*, *Stephania hernandiaefolia* und *Begonia conchifolia* vertreten wird, sind die jüngsten Blattanlagen deutlich abgeflacht-bifazial und besitzen noch keine Anlage eines Schildauswuchses (Abb. 6, Fig. 32). Erst am 5. Primordium etwa von *Menispermum* (vom Vegetationspunkt aus gerechnet) wird ein schmaler Querwulst sichtbar; dies geschieht meist in einem Stadium, in dem das 1. Fiederpaar bereits angelegt ist (Abb. 6, Fig. 29). Ganz ähnliche Bilder erhält man bei der Präparation der jüngsten Blattstadien von *Stephania*. Bei Vorhandensein stipularer Ausgliederungen, wie es bei *Begonia conchifolia* der Fall ist, bilden sich diese viel früher als der Schildauswuchs. Betrachtet man nämlich die junge Blattanlage von *Begonia* auf Abb. 3, Fig. 20, so fällt daran auf, daß die dem Unterblatt zugehörige Medianstipel bereits eine ansehnliche Größe erreicht hat, während am Oberblatt noch nicht die geringste

Spur eines Schildauswuchses zu erkennen ist; ferner ist daran die Beobachtung wichtig, daß das Oberblatt in diesem Stadium noch vollkommen abgeflacht-bifazial in Erscheinung tritt und an ihm die Stielränder (*St*) kontinuierlich in die Spreitenränder übergehen. Eine relativ späte Anlegung des Schildquerwulstes ist auch bei *Nelumbium speciosum* zu beobachten, wo die Medianstipel gleichfalls noch vorher zur Ausbildung gelangt (Abb. 6, Fig. 30 und 33).

Am auffallendsten ist die Bifazialität der Primordien bei peltaten *Araceen*, die größtenteils auch zu dieser Gruppe gehören. Wie erwähnt, behauptet TROLL, daß der Schildauswuchs, der die Voraussetzung für die Schildblattbildung überhaupt darstellt, sekundär entstünde, nämlich erst *nach* Anlage des von vornherein „unifazialen" Stieles. Ein überzeugenderer Gegenbeweis als gerade durch die Entwicklungsgeschichte des *Araceen*-Blattes könnte jedoch gegen diese Theorie gar nicht geliefert werden. Typische Vertreter dieser Gruppe sind *Colocasia antiquorum*, *Caladium* (Gartenform), *Alocasia cucullata* und *Alocasia macrorhiza*. Betrachtet man etwa die jüngsten Blattanlagen von *Colocasia antiquorum*, um ein Beispiel herauszugreifen, so erkennt man in ihnen den einfachen „Kapuzentyp" des Primordiums wieder, so wie er für die meisten *Araceen* charakteristisch ist (s. ROTH 1949). Die jüngsten Blattstadien sind also einwandfrei abgeflacht-bifazial, besitzen deutliche, Ober- und Unterseite begrenzende Ränder und sind im übrigen noch völlig ungegliedert (Abb. 2, Fig. 10). Erst später erfahren die Blattränder etwa auf halber Höhe des Primordiums eine leichte Krümmung nach innen und leiten damit die Teilung des Primordiums in Ober- und Unterblatt ein. Gerade an der Krümmungsstelle der Primordialränder beginnt sich nun das Ventralmeristem besonders zu entwickeln und hier zunächst seine Haupttätigkeit zu entfalten (Abb. 2, Fig. 11). Aus diesem durch das Ventralmeristem gebildeten Ventralwulst geht zuerst die Anlage der Medianstipel hervor. In einem weiter fortgeschrittenen Stadium, das Abb. 2, Fig. 8 wiedergibt, hat die Blattspreite bereits ihr Randwachstum aufgenommen und sich durch „Blattohren" gegen die Stielzone, die inzwischen durch interkalares Wachstum eingeschoben wurde, deutlich abgegrenzt. Die Ränder des Unterblattes scheinen infolge der Weiterentwicklung des Medianstipelquerwulstes bereits ineinander überzugehen, obwohl die Stielränder — identisch mit den ursprünglichen Primordialrändern — noch deutlich als solche sichtbar sind und sich kontinuierlich in die Spreiten- wie Scheidenränder hinein fortsetzen. Aus demselben Ventralmeristem, das die Bildung des Medianstipelquerwulstes veranlaßt hatte, entsteht auch in der Folge der Schildauswuchs. Abb. 2, Fig. 9 zeigt eine relativ weit entwickelte Blattanlage, an der der erste Beginn des Schildauswuchses, der somit in der Bildung weit hinter der Entstehung der Medianstipel nachhinkt, zu verfolgen ist: die beiden

Spreitenhälften haben sich etwas nach innen gerollt und übereinander gelegt und an der Stelle, wo sich die „Blattohren" gegen den Stiel hervorwölben, hat sich ein einheitlicher die beiden Spreitenränder verbindender Schildquerwulst entwickelt. Trotz der Bildung dieser beiden Querwülste und trotz des Umstandes, daß die ganze Blattanlage und

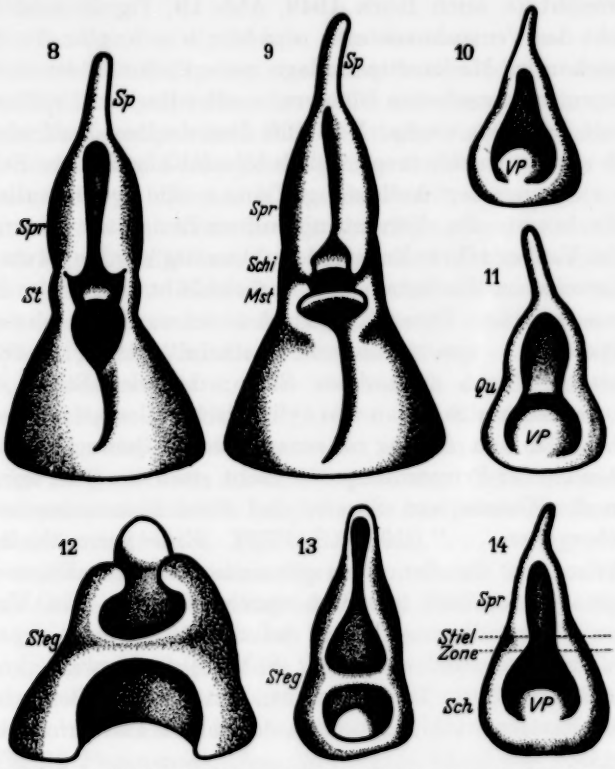


Abb. 2. Verschiedene Blattentwicklungsstadien: Fig. 8—11 und Fig. 14 von *Colocasia antiquorum*. Fig 12 von *Ceiba pentandra*. Fig. 13 von *Peperomia incana*. *Sp* Vorläuferspitze; *Spr* Spreite; *St* Stiel; *Schi* Schildauswuchs; *Qu* der durch das Ventralmeristem gebildete Ventralwulst; *VP* Vegetationspunkt; *Sch* Scheide; *Mst* Medianstipelauswuchs.

insbesondere der Stiel infolge der starken Tätigkeit des Ventralmeristems schon ziemlich massiv geworden ist, treten auch noch in diesem Stadium die ehemaligen Primordialränder am Stiel sehr deutlich hervor. Erst viel später, wenn Medianstipel- und Schildauswuchs schon weit entwickelt sind, beginnt sich mit Hilfe des Ventralmeristems die Ventralrinne des Stieles nun vollkommen auszugleichen und auszufüllen (s. Roth 1949, Abb. 7, Fig. 33, wo sie nur noch schwach sichtbar ist). Die Stielränder kommen dadurch zum Verschwinden und der Stiel macht auf diese Weise im fertigen Zustand einen abgerundet-„unifazialen" Eindruck, obwohl Blattober- und Unterseite in ihm von vorn-

herein enthalten sind. Die Entwicklung schildförmiger *Araceen*-Blätter folgt also im wesentlichen dem normalen *Araceen*-Entwicklungstyp, der von der einfachen bifazialen Kapuzenform des Primordiums ausgeht und im Laufe des Wachstums erst mit Hilfe eines stark ausgeprägten Ventralmeristems die Abrundung und Massivität einzelner Blattabschnitte erreicht (s. auch ROTH 1949, Abb. 19, Fig. 74 und 75). Der Schwerpunkt des Ventralmeristems wird hier wie dort an die Stelle der später entstehenden Medianstipelanlage verlegt; nur bildet sich bei den mit Schildspreiten versehenen Blättern — allerdings viel später — noch zusätzlich ein Schildauswuchs. Mit Hilfe dieses selben Ventralmeristems rundet sich aber auch der ursprünglich bifazial-abgeflachte Stiel *sekundär* ab — entgegen der Auffassung TROLLS, die er über die *Araceen* äußert: „Es könnte die Vermutung auftauchen, daß die unifazialen Stiele erst im Verlaufe ihrer Entwicklung einseitig werden, etwa dadurch, daß die Oberseite im Wachstum früh zurückbleibt und allein die Unterseite sich ausgestaltet. Dies trifft jedoch nicht zu. Vielmehr entstehen sie (die Stiele) ... von vornherein unifazial" (1932, S. 165). Desgleichen betont TROLL an anderer Stelle: daß der Stiel „stets von vornherein als unifaziales Organ von zylindrischer Gestalt in Erscheinung tritt. Er hat also von Anfang an einen runden Querschnitt ..." und „daß die Ränder der Primordialspreite nicht etwa am Stiel herablaufen, sondern an der Grenze von Spreite und Stiel zusammenstrebend ineinander übergehen ..." (1939, S. 1770). Eine ganz ähnliche Entwicklungsweise wie die der oben genannten *Araceen*-Blätter schlägt auch *Ariopsis peltata* ein; trotzdem spricht TROLL — in Unkenntnis der jüngsten Blattstadien — davon, daß der Stiel von *Ariopsis peltata* „streng unifazial gebaut" sei (1939, S. 1779) und zwar „kongenitalunifazial" (1932, S. 200). Diese Ansicht kann aber bei Betrachtung der allerjüngsten Blattentwicklungsstadien auf keinen Fall aufrecht erhalten werden.

Arisaema ringens, bei der man ebenfalls eine sehr späte Anlegung des Schildauswuchses feststellen kann, ist insoferne interessant, als ihre Blattanlagen infolge eines bedeutend früher einsetzenden Ventralmeristems schon in sehr jungen Stadien relativ massiv entwickelt sind (Abb. 3, Fig. 18). Zwar sind auch hier noch die Primordialränder am Oberblatt kenntlich, doch treten sie — dem frühen Dickenwachstum zufolge — nicht mehr so deutlich hervor wie etwa bei *Caladium*. Auch die Kapuzenform des Primordiums wird durch die massige Gestalt des Oberblattes früh beeinträchtigt (ROTH 1949, Abb. 9, Fig. 49 und 51). Es handelt sich hier also um keine qualitativen, sondern lediglich um quantitative und zeitliche Unterschiede im Auftreten des Ventralmeristems, wodurch das Oberblatt relativ früh eine massive und rundliche („Unifazialität" vortäuschende) Gestalt annimmt.

Bei genauerer Betrachtung der Entwicklungsgeschichte hätte TROLL wohl nicht die Meinung vertreten können, auch die Blattstiele der *Araceen* entstünden von vornherein (d. h. kongenital) unifazial und Blattränder wären an ihnen niemals — auch an noch so jungen Stadien — zu entdecken, da gerade hier die Verhältnisse am auffallendsten und eindeutigsten liegen.

Gruppe 2. Bei der 2. Gruppe, die sozusagen eine vermittelnde Stellung zwischen 2 Extremen einnimmt, haben wir — soferne überhaupt eine Medianstipel vorhanden ist — mit einer gleichzeitigen Entstehung von Medianstipel- und Schildblattquerwulst zu rechnen: so bei *Peperomia incana* und *Ceiba pentandra*; in ähnlicher Weise, wenn auch nicht so augenfällig, bildet sich ein gleichmäßig entwickelter gemeinsamer Ventralwulst bei *Victoria regia* und *Nymphaea mexicana* (Abb. 6, Fig. 34 und 35). Bei *Ricinus*, *Hydrocotyle* und *Tropaeolum* können wir noch eine relativ frühe Entstehung des Schildauswuchses beobachten. Interessant ist die Tatsache, daß bei *Hydrocotyle* und *Ricinus* (gelegentlich auch bei *Tropaeolum*) die Querwulstbildung — im Gegensatz zu Gruppe 1: *Menispermum* u. a. — sogar noch *vor* Ausgliederung der ersten Fiederanlagen stattfindet (Abb. 4, Fig. 21, *Hydrocotyle*). Erst nach Entstehung des Schildauswuchses werden die Fiedern in basipetaler Folge ausgegliedert, so wie ich überhaupt bei allen untersuchten gegliederten peltaten Blättern lediglich eine basipetale Fiederentstehung beobachten konnte (Abb. 4, Fig. 24, *Ricinus*).

Bei den charakteristischsten Vertretern dieser Gruppe, *Peperomia incana* und *Ceiba pentandra*, entstehen also Medianstipel- und Schildauswuchs gleichzeitig aus einem beiden gemeinsamen Ventralwulst, einem sog. „Steg"; d. h. hier ist das Ventralmeristem nur auf einer kurzen Zone, aber gleichmäßig tätig und setzt sich infolge seines plötzlichen Auftretens durch scharfe Konturen gegen die übrigen Blatteile ab (Abb. 2, Fig. 13 *Peperomia*). Aus dem oberen Rand des „Steges" bildet sich der Schildauswuchs, aus dem unteren Rand die Medianstipel. Dieselbe Gestalt wie *Peperomia* hat auch das Primordium von *Piper betle*: Das *Piper*-Blatt — das zwar mit einer Medianstipel versehen ist, aber keine Schildspreite besitzt — trägt also gemäß seiner Entwicklungsgeschichte die *Potenz* in sich, aus dem oberen Rand des „Steges" ein Schildblatt zu bilden. Es wäre in diesem Falle also möglich, auf Grund der Kenntnis der Entwicklungsgeschichte sogar etwas über die Gestaltungsmöglichkeiten eines Blattes auszusagen.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei *Ceiba pentandra*, nur daß wir es hier zusätzlich mit einem Fiederblatt zu tun haben. Abb. 2, Fig. 12 zeigt eine junge Blattanlage von *Ceiba*, bei der ein für Medianstipel- und Schildauswuchs gemeinsamer „Steg" wie bei *Peperomia* ausgebildet ist; im Gegensatz zu *Peperomia* ist das Oberblatt hier

jedoch gegliedert und läßt in diesem Falle gerade 3 Fiederanlagen erkennen.

Eine ähnliche Art der Blattbildung kann man unter den *Araceen* bei *Anthurium Veitchii* beobachten: Während sich bei anderen *Araceen* — wie erwähnt — das Ventralmeristem über eine größere Zone der Ventralseite ausdehnt, sein Hauptwachstum aber auf die spätere Medianstipelzone erstreckt, ist es bei *Anthurium Veitchii* gleichmäßig auf einer eng begrenzten Zone ohne gleitende Übergänge tätig und bildet hierdurch wie bei *Peperomia* und *Ceiba* den sog. „Steg". Auf Abb. 6, Fig. 31a und b sind die Unterschiede in Ausdehnung und Wachstumsverteilung des Ventralmeristems zwischen dem gewöhnlichen *Araceen*-Typ und dem sog „Steg"-Typ durch einen medianen Längsschnitt veranschaulicht. In ähnlicher Weise liegt bei Abb. 11, Fig. 60 (*Araceen*-Typ) die Hauptausdehnung des Ventralmeristems auf der Höhe der Medianstipel, während nach oben und unten zu — infolge gleitender Übergänge — ein langsames Abnehmen des Ventralwulstes zu erkennen ist; in Abb. 11, Fig. 61 dagegen ist die Längenausdehnung des Ventralmeristems viel geringer bei rascher Abnahme nach oben und unten; Medianstipel- und Schildauswuchsanlage aber sind von vornherein fast gleich stark entwickelt.

Gruppe 3. Wurden im vorigen diejenigen Blattypen besprochen, bei denen die Anlage des Schildauswuchses zwar relativ früh einsetzt, aber doch immerhin höchstens gleichzeitig mit der Medianstipelbildung, so sollen im folgenden Fälle Erwähnung finden, die zwar sehr selten, aber deshalb besonders interessant sind, weil hier der Schildblattquerwulst auffallend früh zur Anlegung kommt. Da bei Angehörigen dieser Gruppe wenigstens eine rudimentäre Medianstipel vorhanden ist, so kann man hier die überraschende Beobachtung machen, daß der *Schildauswuchs vor der Medianstipelanlage* in Erscheinung tritt. Diese Tatsache ist deshalb besonders merkwürdig, da ja bei der Blattentwicklung meist das Oberblatt zuletzt seine endgültige Ausgestaltung erfährt und das Unterblatt sonst diesem weit in der Bildung vorauseilt.

Diese Gruppe weist als Hauptvertreter *Saxifraga peltata* und *S. tellimoides* auf. Schon vor Ausgliederung der ersten Fiederanlagen bildet sich bei *Saxifraga* ein Ventralwulst: Dieser hat aber wider Erwarten seinen Schwerpunkt in Höhe der späteren Anlage des Schildauswuchses, der somit hier die primäre Bildung darstellt (Abb. 5, Fig. 27 und Fig. 28). Zur selben Zeit sind aber am Unterblatt noch keine Anzeichen einer Medianstipelbildung gegeben und man kann daher die Primordialränder in ihrem Verlauf noch bis zum Schildquerwulst hinauf verfolgen (Abb. 4, Fig. 22). Erst wenn die End- und die beiden Seitenfiedern ausgegliedert sind und der Stiel bereits in die Dicke zu wachsen beginnt, entsteht auch am Unterblatt der Medianstipelquerwulst (Abb. 3, Fig. 15 und Abb. 8, Fig. 41). Man kann also bei *Saxi-*

fraga gerade die umgekehrte Entstehungsfolge von Medianstipel- und Schildauswuchs wie bei Vertretern der Gruppe 1 (*Begonia*, *Araceen* usw.) beobachten. Da im allgemeinen der Medianstipelauswuchs primär entsteht und sekundär erst der Schildauswuchs, könnte man annehmen, daß ersterer die ältere Bildung sei, zumal er ja dem meist früher entwickelten Unterblatt angehört. Diese Reihenfolge ist aber bei *Saxifraga* merkwürdigerweise unterbrochen.

Das Verhalten der Schildblattanlagen von *Saxifraga* leitet zu einer nahe verwandten Typenreihe über, die sich ebenfalls dieser Gruppe anschließt, nämlich dem *Geranium*-Typ. Die Entwicklungsweise von *Geranium macrorhizum* verläuft ganz ähnlich wie die von *Saxifraga*, nur entfaltet hier das Ventralmeristem noch früher seine Tätigkeit am Primordium (Abb. 4, Fig. 25). Die junge Blattanlage scheint sich zunächst wie bei *Saxifraga* in ein Unter- und Oberblatt zu gliedern; der untere Teil des Primordiums ist flach ausgebildet und folglich deutlich als bifazial zu erkennen; der obere Teil erscheint aber — im Gegensatz zu *Saxifraga* — infolge des früh einsetzenden Ventralmeristems von vornherein massiv (Abb. 4, Fig. 23). Dabei darf die Tatsache nicht außer Acht gelassen werden, daß die Primordien des *Caltha*-Typs, die bereits durch das Studium der Medianstipelbildung bekannt sind (Roth 1949. Abb. 9, Fig. 47), äußerlich mit denen von *Geranium* übereinstimmen (Abb. 3, Fig. 19). Das Oberblatt entsteht hier wie dort als massiver Abschnitt und setzt sich in einem deutlichen Winkel gegen das Unterblatt ab; dadurch wird ein wulstartiger Primordialrand gebildet. In der weiteren Entwicklung unterscheiden sich aber beide Blattypen grundsätzlich voneinander. Wie man aus Fig. 26 der Abb. 4 entnehmen kann, ist bei *Geranium* aus dem ventralen Wulstrand des Primordiums, der das flache Unterblatt gegen das massive Oberblatt hin begrenzt, nicht — wie bei *Caltha* (Abb. 3, Fig. 17) — die Medianstipelanlage entstanden, sondern als Teil des Oberblattes der die beiden seitlichen Fiederanlagen verbindende Schildauswuchs. Der *Blattstiel* von *Geranium entsteht* also strenggenommen *aus dem Unterblatt* — bezogen auf *Caltha* und andere ähnliche Blattypen von normalem Bau. Die beiden Primordien von *Caltha* einerseits und *Geranium* andererseits sind einander nicht homolog. Sie haben zwar ursprünglich das gleiche Aussehen, machen aber eine Weiterentwicklung zu gänzlich verschiedenen Blatttypen durch: bei *Caltha* entsteht nämlich aus dem Randwulst die Medianstipel — als oberste Begrenzung des Unterblattes (Abb. 3, Fig. 16) bei *Geranium* indessen aus demselben Primordialteil der Schildauswuchs erst später werden bei *Geranium* die seitlichen Stipularanlagen gebildet. Zum gleichen Entwicklungstyp wie *Geranium* zählt auch noch *Lupinus polyphyllus* (Abb. 7, Fig. 37), dessen jüngste Blattanlagen fast ebenso gebaut sind wie die von *Geranium*.

Gruppe 4. Als letzten und interessantesten Typ der Primordienentwicklung möchte ich schließlich noch den *Podophyllum*-Typ erwähnen,

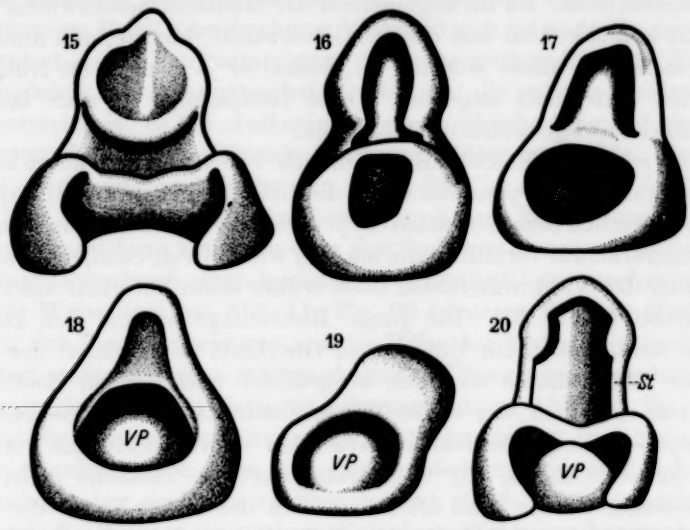


Abb. 3. Blattanlagen von: Fig. 15 *Saxifraga pellata*. Fig. 16, 17 und 19 *Callha palustris*. Fig. 18 *Arisaema ringens*. Fig. 20 *Begonia conchifolia*. *St* Stiel.

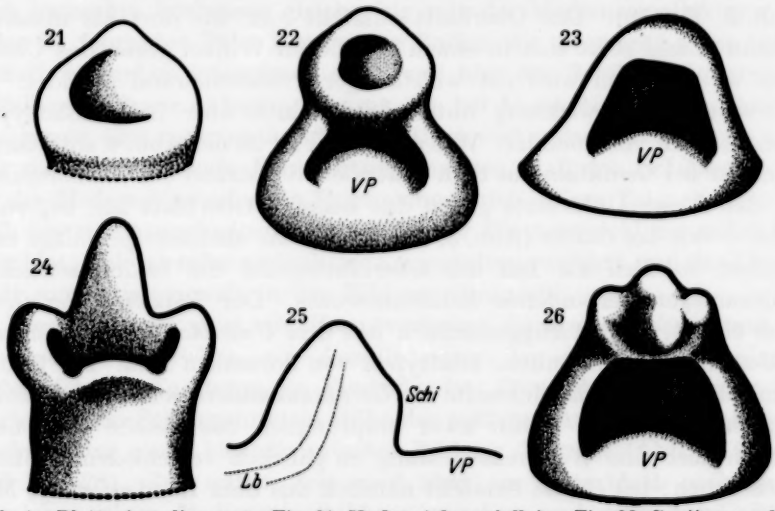


Abb. 4. Blattprimordien von: Fig. 21 *Hydrocotyle umbellata*. Fig. 22 *Saxifraga pellata*. Fig. 23, 25 und 26 *Geranium macrorhizum* (Fig. 25 medianer Längsschnitt). Fig. 24 *Ricinus communis*. *Lb* Leitbündel.

der sich aber völlig abweichend vom normalen Bauplan verhält und deshalb in keine der vorstehend genannten Gruppen eingereiht werden kann — abgesehen von der Tatsache, daß sich auch hier der Schildaus-

wuchs sehr spät entwickelt. Zu dieser Gruppe gehören: *Podophyllum Emodi*, *P. peltatum*, *P. Leichtlini* und *Diphylleia cymosa*. Den äußeren Gestaltungsverhältnissen gemäß sind die jüngsten Primordien des *Podo-*

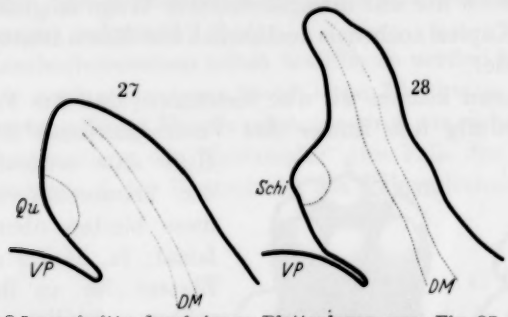


Abb. 5. Mediane Längsschnitte durch junge Blattanlagen von: Fig. 27 *Saxifraga peltata*. Fig. 28 *Saxifraga tellimoides*. *DM* Dorsalmedianus; *Qu* Querwulst; *Schi* Schildauswuchs. Die auf der Ventralseite durch Punktierung begrenzte Zone trat auf den Präparaten durch intensivste Färbung als Hauptwachstumszone hervor. Beide Figuren 70mal.

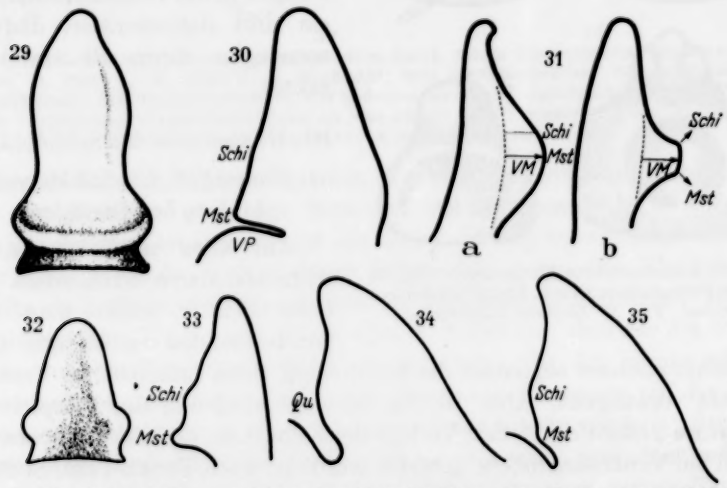


Abb. 6. Fig. 29 und 32 zwei Blattentwicklungsstadien von *Menispermum dahuricum*. Fig. 30—35 (außer 32) mediane Längsschnitte durch Blattanlagen von: Fig. 30 und 33 *Nelumbium speciosum* (Fig. 33 älteres Stadium). Fig. 31 schematische Darstellung des gewöhnlichen *Araceen*-Typs (a) und des Steg-Typs (b) in bezug auf die Unterschiede in der Ausdehnung des Ventralmeristems *VM*. Fig. 34 und 35 *Nymphaea mexicana*. *Schi* Schildauswuchs; *Mst* Medianstipelanlage; *Qu* Medianstipel- und Schildauswuchs gemeinsamer Ventralwulst. Fig. 30, 34 und 35, 70mal. Fig. 33, 40mal.

phyllum-Typs (Abb. 7, Fig. 39) ganz ähnlich gebaut wie die von *Caltha* (Abb. 3, Fig. 19) und *Geranium* (Abb. 4, Fig. 23). Ein unterer abgeflachter Primordialteil wird auch hier gegen einen oberen massiven Teil durch einen Randwulst abgegrenzt, nur daß bei *Podophyllum* der dadurch entstehende Kontur vielleicht noch stärker ausgeprägt ist. Rein präparativ

fällt auch wohl schon bei *Podophyllum* und *Diphylleia* — im Gegensatz zu den Primordien der oben genannten Pflanzen — die Hyponastie über den Vegetationspunkt auf. Eine eindeutige Klärung des Wachstumsmodus ist jedoch nur auf histogenetischem Wege möglich, weshalb ich im nächsten Kapitel nochmals ausführlich auf diesen Blattyp zu sprechen kommen werde.

Rückblickend können wir also feststellen, daß das Primäre bei der Schildblattbildung fast immer das Ventralmeristem ist, mit dessen Hilfe eine ventrale Verdickung der Primordien erreicht wird: diese bleiben aber dennoch bifazial; ja, häufig sind sogar die Blattränder an ihnen auch in späteren Stadien noch deutlich zu erkennen. Erst sekundär tritt meist eine Zone des Ventralwulstes in das Randzellwachstum ein und dokumentiert dadurch sozusagen ihren Blattrandcharakter.

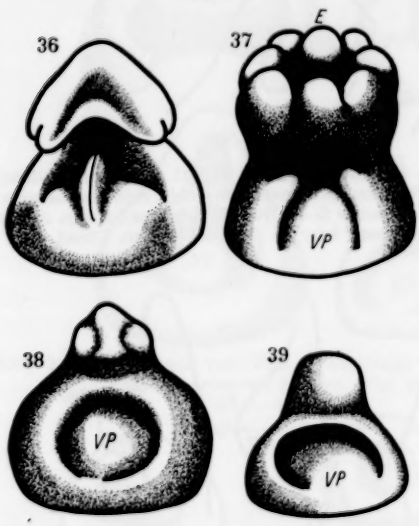


Abb. 7. Auspräparierte Blattanlagen: Fig. 36 und 38 *Podophyllum Emodi*. Fig. 39 *Diphylleia cymosa*. Fig. 37 *Lupinus polyphyllus*.

III. Histogenese der Schildblätter.

a) Normalfall der Schildspreitenbildung bei Dicotylen.

Auf allen medianen Längsschnitten durch Primordien peltater Blätter kann man nun feststellen, daß der Bildung eines Schildauswuchses allgemein die Entstehung eines einheitlichen Ventralwulstes vorausgeht. Abb. 16, Fig. 82 zeigt eindeutig am Beispiel von *Saxifraga peltata* durch den Verlauf der Zellreihen, daß der Ventralwulst durch ein Ventralmeristem gebildet wurde (s. auch TROLL 1939, S. 1773, Abb. 1520). Die Tätigkeit des Ventralmeristems wird auch bei der Innervierung der Schildblätter offensichtlich: in den jungen Blattanlagen sehen wir zunächst immer nur die dorsalen Leitbündel primär im Stiel verlaufen (vgl. Abb. 8, Fig. 40); die ventralen Leitbündel, die den Bündelring — im Querschnitt gesehen — schließen, werden erst später sekundär in dem durch das Ventralmeristem gebildeten Gewebe angelegt (Abb. 8, Fig. 41). Bei den meisten untersuchten Schildblättern des von mir so genannten „Normaltyps" wird das Ventralmeristem bei der Bildung des einheitlichen Schildquerwulstes mehr oder weniger zeitig durch ein ausgesprochenes Randzellwachstum abgelöst. Dies bedeutet, daß nun eine bestimmte und eng begrenzte Zone des ausgedehnten Ventral-

wulstes in das Randwachstum eintritt und sich somit ein Schild- (bzw. Medianstipel-) auswuchs zu bilden beginnt. Abb. 8, Fig. 40 veranschaulicht die Verhältnisse an einem Längsschnitt durch ein Primordium von *Saxifraga peltata*. Der Ventralwulst hat sich dabei sozusagen bereits in 2 Querwulstzonen „aufgeteilt".

Was das Randzellwachstum selbst betrifft, so werden hier Peri- und Antiklinalwände nach einem ganz bestimmten Rhythmus gebildet. Infolge des Auftretens dieses Randwachstums sind wir sicher berechtigt, von einem „Verschmelzen der Blattränder" (im Falle des Schildblattes der Spreitenränder) auf der Ventralseite des Primordiums zu sprechen.

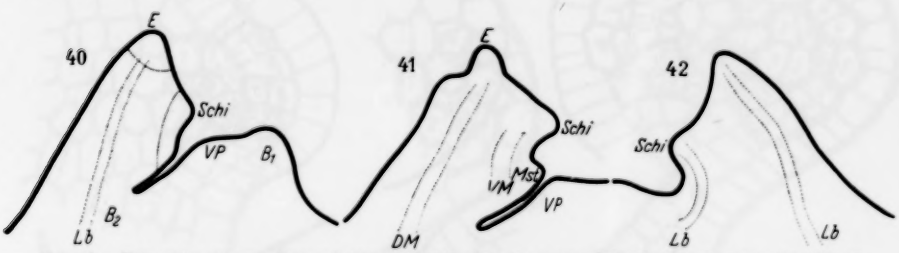


Abb. 8. Fig. 40—42 mediane Längsschnitte durch junge Blattanlagen von *Saxifraga peltata*. B_1 Blatt 1; B_2 Blatt 2; *E* Endfieder; *Schi* Schildauswuchs; *Mst* Medianstipel: *Lb* Leitbündel; *DM* Dorsalmedianus; *VM* bedeutet *hier* Ventralmedianus. Die auf Fig. 40 durch Punktierung eingerahmte Zone an der Spitze und Ventralseite von B_2 hat sich besonders intensiv gefärbt. Alle Figuren etwa 40mal.

Zudem ist bei allen Blattanlagen ein Fortschreiten des Schildauswuchses von den Rändern nach der Mitte zu wahrzunehmen; d. h. auf den Medianschnitten ist immer erst ein kleiner wenig entwickelter Schildquerwulst zu sehen, während zur selben Zeit gegen die Flanken hin bereits ein kräftiger Schildauswuchs im Wachstum begriffen ist. Hierzu vergleiche man Fig. 40 und 42 der Abb. 8: Nicht nur, daß der Schildauswuchs auf dem Tangentialschnitt von *Saxifraga* (Fig. 42) bereits stärker entwickelt ist, sondern es wird auch gerade ein Blattnerv auf der Ventralseite sichtbar, der in den Schildauswuchs hinein verläuft; dagegen ist auf dem Medianschnitt der Fig. 40 — abgesehen von dem geringer entwickelten Schildauswuchs — auch noch nichts von einem Ventralmedianus zu entdecken, der ja erst später in dem vom Ventralmeristem gebildeten Gewebe entsteht. Auf die ebenfalls meist vorhandenen Unterschiede im Randwachstum der seitlichen Partien und der Mitte während der Bildung des Schildauswuchses wird später noch einzugehen sein. Man kann also mit Recht behaupten, daß sich die seitlichen Partien des Schildauswuchses proleptisch entwickeln.

Bei der Entwicklung des Schildquerwulstes findet man fast ausschließlich den Periklinal-Antiklinaltypus des Randzellwachstums in der ersten subepidermalen Zellschicht vor. Zwei- und einschneidige Initialzellen sind neben dem Periklinal-Antiklinaltyp vorwiegend für den

Bereich des Unterblattes charakteristisch. In diesem Zusammenhang interessiert zunächst der Periklinal-Antiklinaltypus des Randwachstums, wo sich nach TROLL (1939, S. 1774ff.) ein 2-Zell- und ein 3-Zellrhythmus unterscheiden lassen. Bekanntlich wird beim 2-Zellrhythmus jeweils nach 2 Zellteilungen (in diesem Falle „pendelnd") eine neue Rand- oder Initialzelle herausgeschnitten, während sich eine

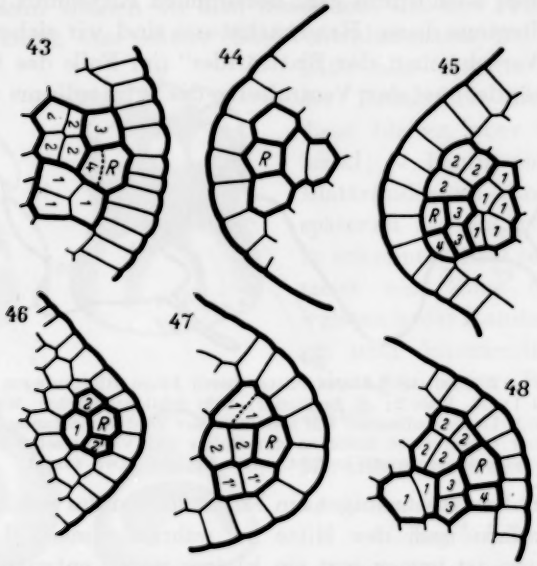


Abb. 9. Stark vergrößerte Ausschnitte aus dem Schildauswuchs jüngerer Blattanlagen (Längsschnitte): Fig. 43 (2-Zellrhythmus) und Fig. 46 (3-Zellrhythmus) von *Saxifraga peltata*. Fig. 44 *Rodgersia tabularis* (3-Zellrhythmus). Fig. 45 (2-Zellrhythmus) und 47 (3-Zellrhythmus) *Nymphaea mexicana*. Fig. 48 *Lupinus polyphyllus* (2-Zellrhythmus). *R* Randzelle. Die Zahlen bezeichnen zusammengehörige Segmente, die ihrerseits durch stärkere Umrandung kenntlich gemacht sind. Fig. 43—48, 377mal; ausgenommen Fig. 46, 227mal.

solche beim 3-Zellrhythmus ganz symmetrisch erst nach 3 Teilungen bildet. Abb. 10, Fig. 50 bringt einen Ausschnitt aus dem Schildauswuchs von *Ricinus communis*, in dem eine Randzelle (*R*) die Segmentierung nach dem 2-Zellrhythmus bereits begonnen hat; die einzelnen Segmente sind durch kräftigere Linienführung hervorgehoben. Eine Übersicht über das Gesamtblatt und die Größe des Schildauswuchses ist in Fig. 77 der Abb. 15 wiedergegeben. An einem schon wohl ausgebildeten Schildauswuchs von *Rodgersia tabularis* der Fig. 44 von Abb. 9 läßt sich der eben erst begonnene 3-Zellrhythmus des Randwachstums studieren; die Segmentierung ist wie oben gekennzeichnet. Das Bemerkenswerte bei der Bildung des Schildauswuchses ist nun, daß sich in den meisten Fällen beide Rhythmen im Laufe der Entwicklung ablösen; diese Beobachtung konnte früher schon TROLL (1939, S. 1774) am Bei-

spiel von *Homalanthus populneus* und *Senecio tropaeolifolius* machen. Fast immer beginnt nämlich der Schildauswuchs in seinen frühesten Stadien mit dem 2-Zellrhythmus, der später vom 3-Zellrhythmus abgelöst wird. Die Blattspitze dagegen wächst zu dieser Zeit meist mit

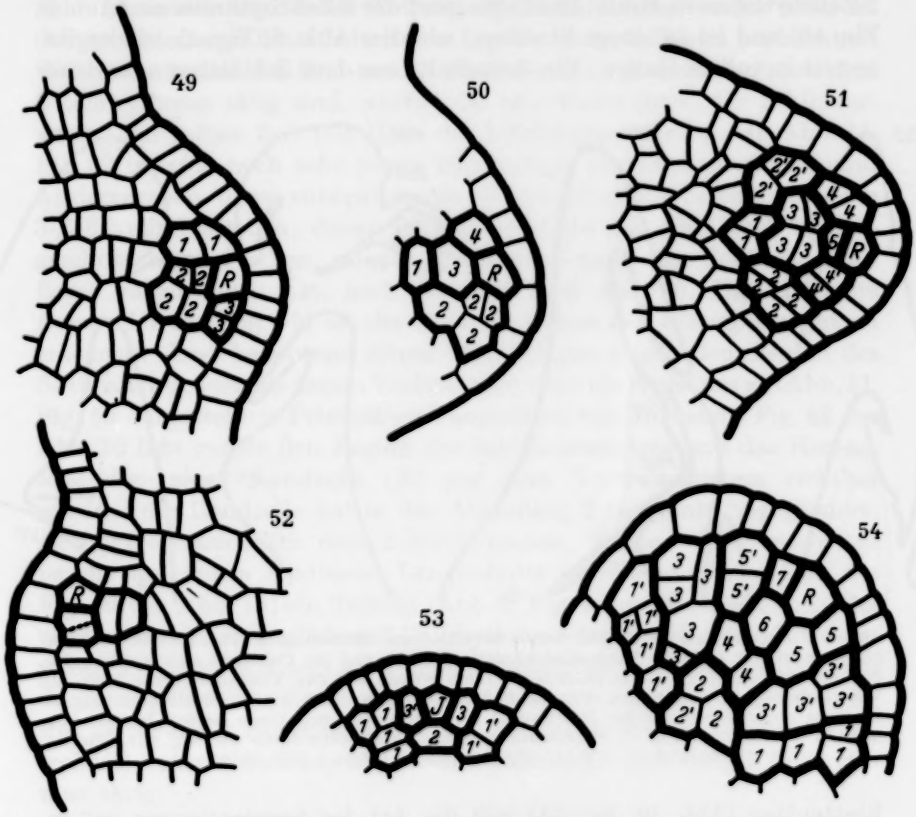


Abb. 10. Fig. 49—52 Blattausschnitte aus der Region des Schildauswuchses (Längsschnitte): Fig. 49 *Nelumbium speciosum* (2-Zellrhythmus). Fig. 50 *Ricinus communis* (2-Zellrhythmus). Fig. 51 *Saxifraga peltata* (3-Zellrhythmus). Fig. 52 *Lupinus polyphyllus* (2-Zellrhythmus). Fig. 53 Blattspitze von *Lupinus polyphyllus* (3-Zellrhythmus); *J* Initialzelle. Fig. 54 zweite Seitenfieder von *Lupinus polyphyllus* (3-Zellrhythmus). *R* Randzelle. Fig. 49—53, 340mal. Fig. 54, 565mal.

Hilfe einer Initiale, die sich nach dem 3-Zellrhythmus teilt. Eine solche Art der Entwicklung finden wir beispielsweise bei *Nymphaea mexicana*, *Nelumbium speciosum*, *Rodgersia tabularis*, *Saxifraga peltata*, *Lupinus polyphyllus*, *Diphylleia cymosa* und *Podophyllum*-Arten. Gut zu beobachten ist die Aufeinanderfolge der verschiedenen Teilungsrhythmen z. B. an jungen Blattstadien von *Rodgersia tabularis*: Zu Beginn der Entwicklung des Schildauswuchses ist die Randzelle nach dem 2-Zellrhythmus tätig und gliedert auf diese Weise etwa 6 Segmente ab; erst wenn

der Schildauswuchs schon deutlich herausgebildet ist, geht die Initiale zum 3-Zellrhythmus über (Abb. 9, Fig. 44). Derselbe Wachstumsmodus findet sich auch bei *Saxifraga peltata*; in einem Entwicklungszustand, wie ihn Abb. 8, Fig. 40 und Abb. 9, Fig. 43 darstellen, ist noch der 2-Zellrhythmus in Kraft; bald aber setzt der 3-Zellrhythmus ein (Abb. 9, Fig. 46) und ist in einem Stadium, wie dies Abb. 8, Fig. 41 wiedergibt, bereits in vollem Gange. Ein Ausschnitt aus dem Schildauswuchs dieser

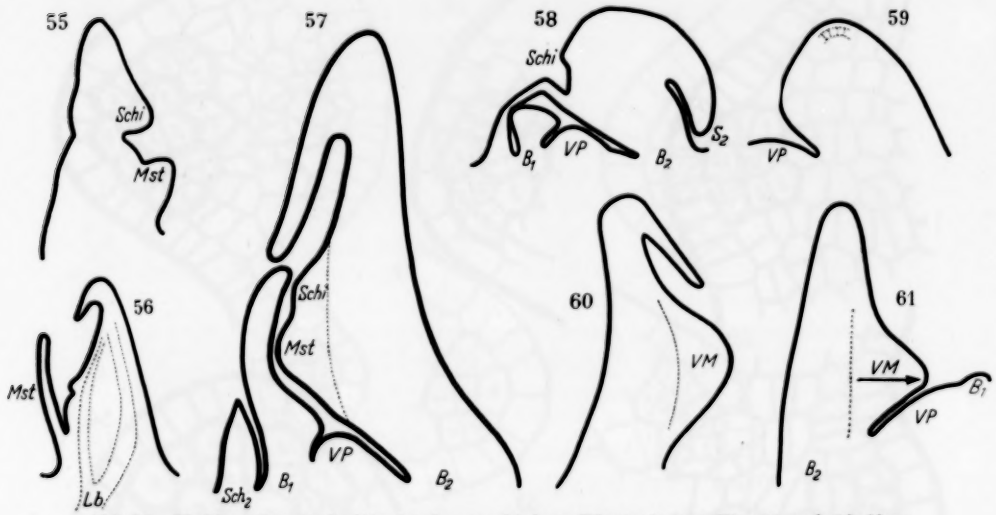


Abb. 11. Mediane Längsschnitte durch verschiedene Blattanlagen: Fig. 55 und 56 *Nymphaea mexicana* (Fig. 55 Tangentialschnitt). Fig. 57 und 60 *Colocasia antiquorum*; Sch_2 Scheide von Blatt 2; durch punktierte Linie wurde auf der Ventralseite die Zone des Ventralmeristems abgegrenzt. Fig. 58 *Podophyllum Emodi*; S_2 zweite Blattspitze. Fig. 59 *Lupinus polyphyllus*; an der Blattspitze die Initialzelle mit ihren beiden letzten Segmenten (s. Fig. 53). Fig. 61 *Peperomia argyreia* (punktierte Linie wie Fig. 60). Fig. 55, 57, 60 und 61, 53mal. Fig. 56 und 58, 22mal. Fig. 59, 93mal.

Blattanlage (Abb. 10, Fig. 51) läßt die Art der Segmentierung gut erkennen. Dabei kann man unter Umständen an *einem* Blatt die 2 Entwicklungsstadien des Teilungsrhythmus *nebeneinander* beobachten: indem man nämlich auf den Medianschnitten noch den 2-Zellrhythmus im Schildauswuchs vorfindet, während weiter nach außen zu die Randzellen bereits nach dem 3-Zellrhythmus arbeiten. Bei jungen Blattanlagen von *Nymphaea mexicana* tritt dies besonders eindrucksvoll in Erscheinung: Abb. 11, Fig. 56 stellt ein relativ fortgeschrittenes Stadium dar, an dem die Medianstipel schon mächtig entwickelt ist; trotzdem ist der Schildauswuchs noch relativ gering und seine Randzellen teilen sich nach dem 2-Zellrhythmus (Abb. 9, Fig. 45). Ein Blatt, das etwa um die Hälfte kleiner ist, zeigt auf einem Tangentialschnitt (Abb. 11, Fig. 55) einen bedeutend mächtiger entwickelten Schildauswuchs, da

sich ja die randlichen Partien des Blattes proleptisch entwickeln. Es ist daher nicht verwunderlich, wenn sich in diesem Bereich die Randzellen bereits nach dem 3-Zellrhythmus teilen, wie dies Abb. 9, Fig. 47 (ein Ausschnitt aus dem Schildauswuchs von Fig. 55) veranschaulicht. Sehr instruktiv sind beide Teilungsrhythmen nebeneinander auch an den verschiedenen Blattfiedern von *Lupinus polyphyllus* zu beobachten: Während nämlich bei End- und Seitenfiedern die Randzellen nach dem 3-Zellrhythmus tätig sind, wächst die Querfieder (bzw. der Schildauswuchs) zur selben Zeit mit Hilfe der 2-Zellsegmentierung. In Abb. 11, Fig. 59 ist eine noch sehr junge Blattanlage von *Lupinus polyphyllus* wiedergegeben, deren subepidermale Spitzenzellen sich bereits nach dem 3-Zellrhythmus teilen; dieser Rhythmus bleibt nun aber auch in fortgeschritteneren Stadien, wo sich die Blattspitze in eine deutliche Endfieder umgewandelt hat, noch erhalten. Auf Abb. 10, Fig. 53 (einem Ausschnitt aus Fig. 59) ist der 3-Zellrhythmus der Blattspitze gut zu erkennen. Erst bedeutend ältere Blattanlagen zeigen den Beginn des Schildauswuchses, als dessen Vorläufer der ventrale Wulst des auf Abb. 11, Fig. 59 dargestellten Primordiums angesehen werden kann. Fig. 52 der Abb. 10 läßt gerade den Beginn des Schildauswuchses und das Herausschneiden einer Randzelle (*R*) aus dem Ventralmeristem sichtbar werden; die Randzelle hat in der Abbildung 2 Segmente abgegliedert; sie folgt offensichtlich dem 2-Zellrhythmus. Etwas weiter entwickelt ist die auf einem medianen Längsschnitt getroffene Blattanlage der Fig. 69 von Abb. 13; ein Teilbild (Abb. 9, Fig. 48) verdeutlicht auch hier wiederum den anfänglichen 2-Zellrhythmus der Randzelle. Auf demselben Präparat war nun an Tangentialschnitten der Teilungsrhythmus der Randzellen von (End- und) Seitenfiedern zu erkennen; wie Abb. 10, Fig. 54 für die 2. Seitenfieder (= F_2, von der Endfieder basalwärts gerechnet) veranschaulicht, ist hier eine Randzelle nach dem 3-Zellrhythmus tätig.

b) Blatttypen mit lange tätigem Ventralmeristem.

Aus den eben aufgeführten Beispielen geht eindeutig hervor, daß die Bildung eines Schildauswuchses ganz allgemein durch eine starke Teilungstätigkeit des Ventralmeristems eingeleitet wird. Im Normalfall wird aus dem durch das Ventralmeristem erzeugten Ventralwulst alsbald eine subepidermale Initiale (Randzelle) herausgeschnitten, die durch Periklinal-Antiklinalsegmentierung den einheitlichen Schildauswuchs hervorbringt. An Blattanlagen von *Nelumbium speciosum* war dies gut zu beobachten: Abb. 10, Fig. 49 zeigt einen Ausschnitt aus dem Ventralmeristem (kenntlich im Längsschnitt durch die horizontal verlaufenden Zellreihen) mit beginnender Schildbildung; der hier noch schwach entwickelte Schildauswuchs wurde durch die Tätigkeit der

Randzelle (*R*), die bisher 3 Segmente nach dem 2-Zellrhythmus abgegliedert hat, herausgebildet.

Ein viel stärker ausgeprägtes und bedeutend länger tätiges Ventralmeristem als die meisten *Dicotylen* weisen jedoch die *Araceen* auf

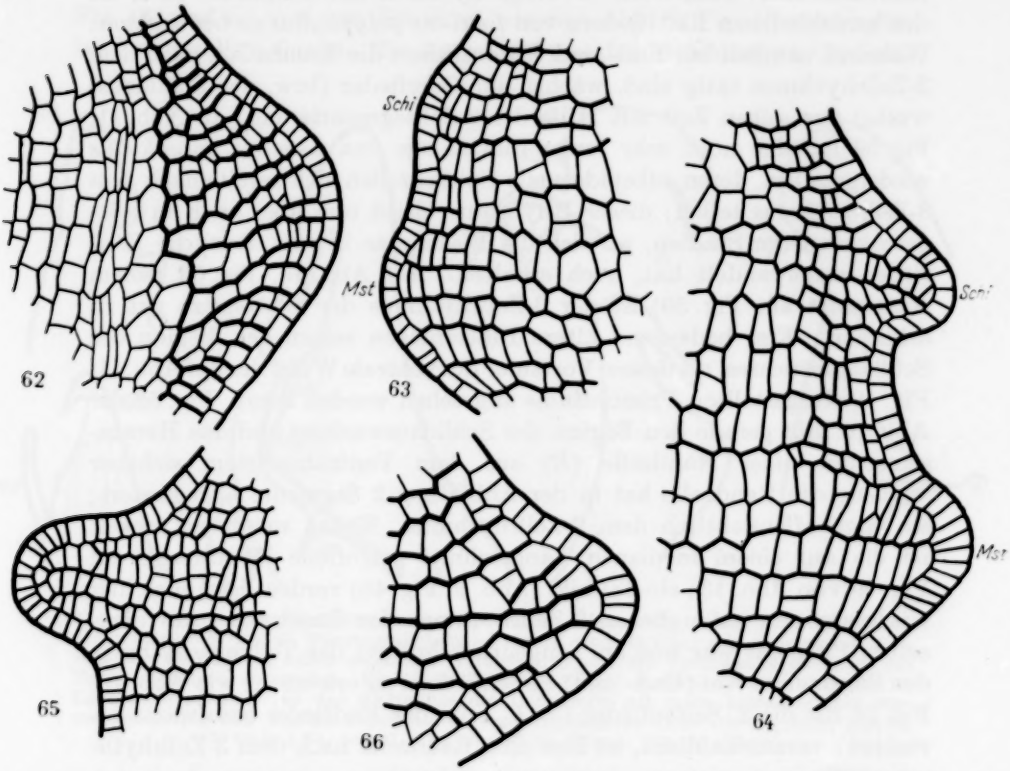


Abb. 12. Teilansichten von medianen Längsschnitten durch Blattanlagen: Fig. 62—64 *Colocasia antiquorum*: Fig. 62 Ausschnitt aus dem Ventralwulst mit Ventralmeristem (durch starke Kontur abgegrenzt vom übrigen Gewebe). Fig. 63 Ventralwulst bereits differenziert in Schildauswuchs *Schi* und Medianstipelauswuchs *Mst*. Fig. 64 ein noch weiter fortgeschrittenes Stadium. Fig. 65 *Begonia conchifolia*, Schildauswuchs. Fig. 66 *Peperomia argyreia*, Ventralwulst. *VM* überall kenntlich durch horizontal verlaufende Zellreihen. Fig. 62—64, 157mal. Fig. 65 und 66, 227mal.

(s. ROTH 1949, Abb. 19, Fig. 74 und 75). Als Vertreter peltater *Araceen*, deren Entwicklungsgeschichte eingehender studiert wurde, wären die Gattungen *Caladium*, *Anthurium*, *Alocasia* und *Colocasia* zu erwähnen. Abb. 11, Fig. 60 zeigt einen medianen Längsschnitt durch ein junges Blatt von *Colocasia antiquorum*; daran ist ein mächtig entwickelter („bauchförmiger") Ventralwulst zu erkennen, der durch die intensive Teilungstätigkeit des für *Araceen* besonders charakteristischen Ventralmeristems gebildet wurde. Auf Abb. 12, Fig. 62 ist dies durch den Ver-

lauf regelmäßig angeordneter Zellreihen schön zu verfolgen. Blatt 2 von Abb. 11, Fig. 57 stellt ein etwas älteres Entwicklungsstadium dar, bei dem Medianstipel- und Schildauswuchs gerade in Bildung begriffen sind. Wie auf Abb. 12, Fig. 63, das einen Ausschnitt von Fig. 57 wiedergibt, offensichtlich wird, sind hier noch keine Randzellen gebildet worden, sondern sowohl Medianstipel- wie Schildauswuchs haben sich aus dem beiden gemeinsamen Ventralwulst durch besonders intensive Tätigkeit von 2—3 Zellreihen des Ventralmeristems entwickelt. Ein noch fortgeschritteneres Stadium bringt Abb. 12, Fig. 64, bei dem die Hauptverantwortlichen für Medianstipel- und Schildauswuchsbildung immer noch 2—3 Zellreihen des Ventralmeristems darstellen, ohne daß bisher besondere Randzellen entstanden wären. Der Teilungsmodus wird hier demnach hauptsächlich durch das Auftreten von Periklinalwänden charakterisiert, deren Folge ab und zu durch antiklinale Teilungen unterbrochen wird. Dieser interessante Fall ist ein Beispiel dafür, daß das Ventralmeristem nicht nur massive Blatteile (Ventralwülste, runde Stiele usw.) zu bilden imstande ist — also dem Dickenwachstum dient —, sondern daß es auch das Entstehen von Schild- und Medianstipelauswüchsen und somit (sensu stricto) das Randwachstum bei *Araceen* einzuleiten vermag.

Bei mit Schildblättern ausgestatteten *Piperaceen*, die hinsichtlich ihrer Entwicklungsgeschichte den *Araceen* nahestehen (Roth 1949), wie *Peperomia argyreia*, bleibt das Ventralmeristem ebenfalls auffallend lange erhalten (Abb. 11, Fig. 61 und Abb. 12, Fig. 66). Ein Schildauswuchs, der zunächst keine Randzellbildung aufweist, sondern allein durch periklinale Wandbildung einiger Zellreihen des Ventralmeristems entsteht, findet sich auch bei *Begonia conchifolia* (Abb. 12, Fig. 65).

c) Schildblätter, die durch „Übergipfelung" entstehen.

Zum Verständnis des nun folgenden Blattyps — den man auch den *Podophyllum*-Typ nennen könnte — sei nochmals darauf aufmerksam gemacht, daß die jüngsten Blattstadien von *Podophyllum*-Arten und *Diphylleia cymosa* denen von *Geranium macrorhizum*, *Caltha palustris* und *Rodgersia podophylla* im Aussehen auffallend gleichen. Doch fiel hier im Gegensatz zu diesen Pflanzen bei Präparation noch jüngerer Stadien als des in Abb. 7, Fig. 39 dargestellten eine starke Krümmung der Blattanlage und ihrer Spitze über den Vegetationspunkt auf, so wie dies für *Allium cepa*, *Iris* und andere bereits beschrieben worden ist (Roth 1949 und Thielke 1948). Auf medianen Längsschnitten von *Podophyllum* und *Diphylleia* konnte die Frage, welchem Entwicklungstyp diese beiden Gattungen folgen würden, nun eindeutig dahingehend geklärt werden, daß auch bei diesen *Berberidaceen* eine von uns so

genannte „Übergipfelung“[1] stattfindet (Abb. 11, Fig. 58 und Abb. 15, Fig. 78); wir können somit diese Blattanlagen ohne weiteres dem *Allium-cepa*-Typ der *Monocotylen* zuordnen. Die primäre Blattspitze (S_1) neigt sich nämlich von vornherein (Hyponastie) über den Vegetationspunkt, so daß die Blattoberseite diesem dicht angeschmiegt ist (Abb. 13, Fig. 67: B_1), ganz entgegengesetzt der Wachstumsrichtung anderer Dicotylenblätter, die sich — wie die von *Nyphmaea mexicana*

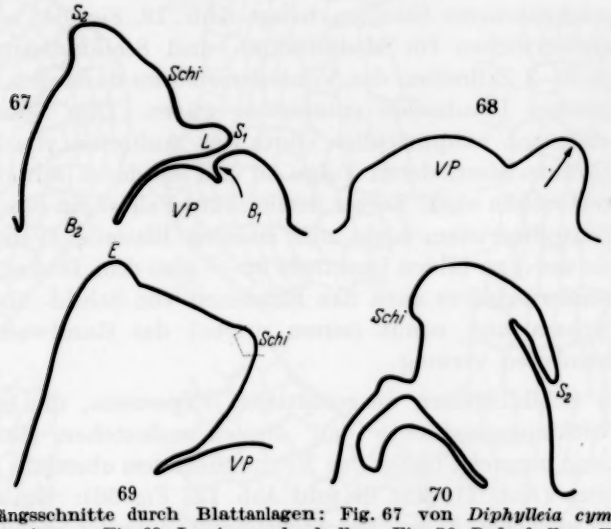


Abb. 13. Längsschnitte durch Blattanlagen: Fig. 67 von *Diphylleia cymosa*. Fig. 68 *Nymphaea mexicana*. Fig. 69 *Lupinus polyphyllus*. Fig. 70 *Podophyllum Emodi*. *L* Ligula; S_1 primäre Spitze; S_2 sekundäre Spitze; *Schi* Schildauswuchs. Die Pfeile deuten die Wachstumsrichtung an. Fig. 67, 40mal. Fig. 68 und 69, 70mal. Fig. 70, 17mal.

etwa (Abb. 13, Fig. 68) — weit vom Vegetationspunkt wegneigen. Diese primäre Blattspitze stellt aber ihr Wachstum bald ein, indessen auf der Dorsalseite des Primordiums eine neue sekundäre Spitze (S_2) entsteht (Abb. 11, Fig. 58: B_1 und Abb. 13, Fig. 67: B_2). Die primäre Spitze wächst zunächst wie bei *Allium cepa* mit Hilfe von zweischneidigen subepidermalen Initialen (J_1 der Abb. 14, Fig. 73); der dorsale Auswuchs dagegen, also die sekundäre Spitze, wird mittels subepidermaler Initialen, die sich nach dem 3-Zellrhythmus teilen, aufgebaut (Abb. 16, Fig. 81). Auf Abb. 14, Fig. 71 ist die Segmentierung von J_2 (wobei man sich wieder mehrere solcher Initialen nebeneinander liegend vorzustellen hat) an einer etwa gleich alten Blattanlage nochmals vergrößert wiedergegeben. Zur Orientierung über die allgemeinen Lage- und Größenverhältnisse sei auf Blatt 1 der Fig. 78 von Abb. 15 hingewiesen. Derselbe

[1] Trotz der Kritik TROLLS (in Fortschr. d. Bot. **13**, 43) bleibe ich bei meiner Auffassung,

Wachstumsmodus von S_2 wurde auch bei *Diphylleia* beobachtet, wie ein fortgeschrittenes Stadium (der Abb. 15, Fig. 80: B_2) auf Abb. 14, Fig. 72 im Detail zeigt. Auch zur Endfieder entwickelt wächst der sekundäre Scheitel von *Podophyllum* auf dieselbe Weise weiter, also mit Hilfe von Initialen, die sich nach dem 3-Zellrhythmus teilen (Abb. 13,

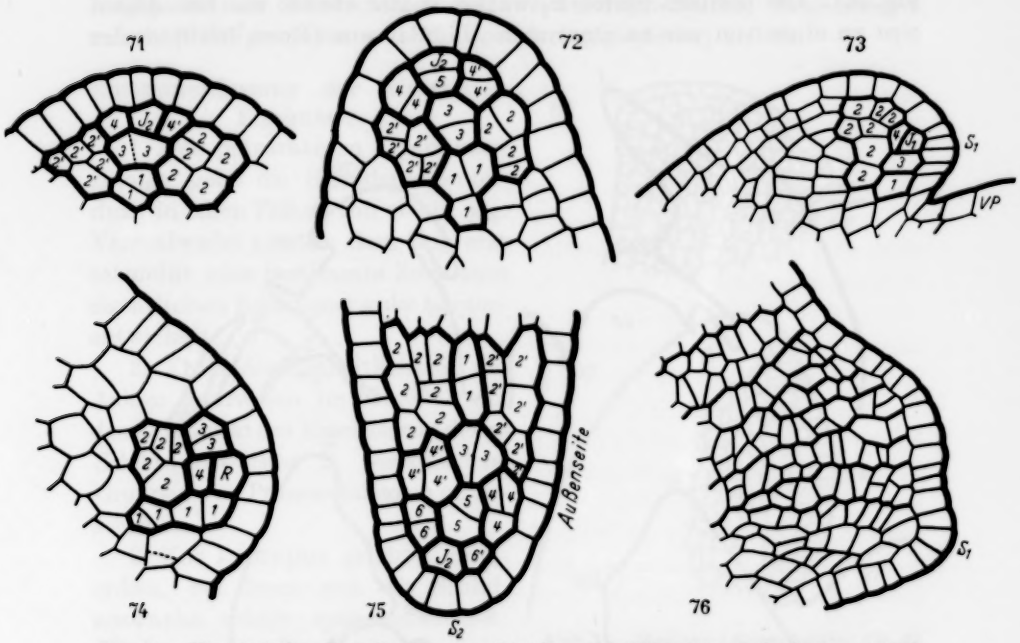


Abb. 14. Histologische Einzelheiten aus Blattlängsschnitten von *Podophyllum Emodi* und *Diphylleia cymosa*: Fig. 71 sekundäre Blattspitze der ersten Blattanlage von *Podophyllum* aus Fig. 78 (3-Zellrhythmus der Initialzelle J_1). Fig. 72 sekundäre Blattspitze von *Diphylleia* (3-Zellrhythmus). Fig. 73 sehr junge Blattanlage von *Podophyllum*, noch ohne sekundäre Spitze (die Initialzelle J_1 zweischneidig). Fig. 74 Schildauswuchs von *Podophyllum* (Randzelle R nach dem 2-Zellrhythmus tätig). Fig. 75 sekundäre Spitze S_2 (=Endfieder) von *Podophyllum*, den 3-Zellrhythmus zeigend. Fig. 76 Ventralwulst von *Diphylleia* (über der primären Spitze S_1) mit Ventralmeristem, kenntlich durch horizontal verlaufende Zellreihen. Fig. 71, 72, 74 und 75, 340mal. Fig. 73 und 76, 235mal.

Fig. 70: Übersicht und Abb. 14, Fig. 75: Ausschnitt aus der Endfieder). Die Segmentierungsart ist auf allen Längsschnitten eindeutig und klar zu verfolgen.

Die Bildung des Schildauswuchses wird aber auch bei dieser Entwicklungsweise durch die Tätigkeit des Ventralmeristems eingeleitet; also auch der sekundäre Auswuchs ist — obwohl er von vornherein als massiver Blatteil in Erscheinung tritt — bifazial. Blattanlagen von der Größe wie die in Abb. 15, Fig. 79 wiedergegebene, bei der bereits ein Schildquerwulst in Entwicklung begriffen ist, weisen ein deutliches Ventralmeristem auf. Abb. 14, Fig. 76, die einen Ausschnitt des Ventralwulstes der Blattanlage von Fig. 79 bringt, läßt das Ventralmeristem

an dem regelmäßigen Verlauf der horizontalen Zellreihen deutlich werden; trotz des beginnenden Schildauswuchses wurde hier noch keine ausgesprochene Randzelle, die für diesen verantwortlich wäre, gebildet. Bald darauf entsteht jedoch die für andere Objekte bereits geschilderte Initiale, die auch hier zunächst mit dem 2-Zellrhythmus beginnt (Abb. 14, Fig. 74). Die primäre Spitze S_1 wächst später ebenso wie bei *Allium cepa* zu einer von uns so genannten „Ligula" aus (ROTH 1949) — der

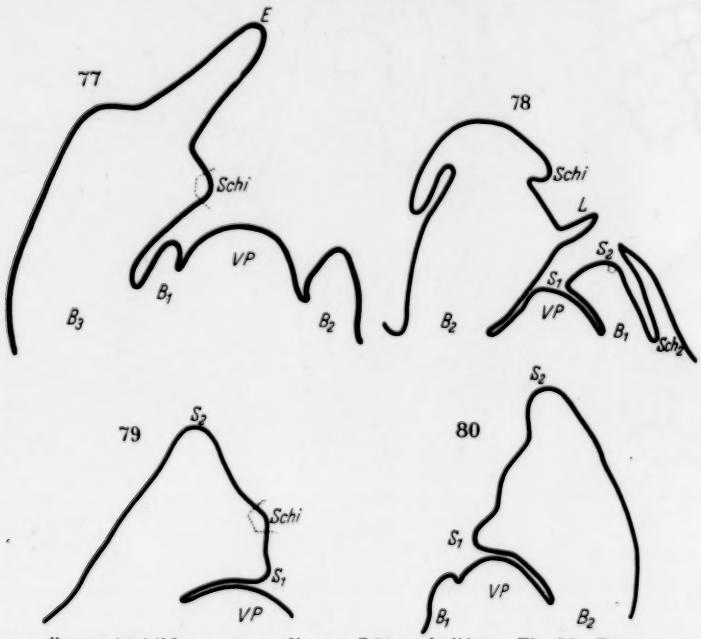


Abb. 15. Übersichtsbilder von medianen Längsschnitten: Fig. 77 *Ricinus communis*. Fig. 78 *Podophyllum Emodi*; *L* Ligula, Sch_2 Scheide von Blatt 2, S_1 und S_2 wie vorige. Fig. 79 und 80 *Diphylleia cymosa*. Fig. 77, 79 und 80, 53mal. Fig. 78, 22mal.

Medianstipel äußerlich gleich, nur auf Grund der Entwicklungsgeschichte dem morphologischen Werte nach mit ihr nicht identisch; sie erreicht ihre Weiterentwicklung durch zwei- und einschneidige subepidermale, später epidermale Initialzellen (Abb. 13, Fig. 67: *L*). Die sekundäre Spitze dagegen baut das gesamte „Oberblatt" auf (Abb. 7, Fig. 38). Bei *Podophyllum* und *Diphylleia* erreicht nun dieses bisher so genannte „Oberblatt" — verglichen mit dem *Allium-cepa*-Typ der Monocotylen — den *Höhepunkt der Differenzierung und Kompliziertheit!* Während zum sog. „Unterblatt" *der* Blatteil wird, der einem ganzen Blatt des Normaltypus homolog ist, kann man im sog. „Oberblatt", dem sekundären Auswuchs, eine *Neubildung* erblicken, die bei *Allium cepa* eine massive Rundspreite, bei *Iris* eine ungegliederte Schwertspreite hervorbrachte; hier bei *Podophyllum* und *Diphylleia gliedert sich* diese *Neubildung* aber nicht nur *in Stiel und wohlentwickelte gefiederte Spreite*, sondern

bildet auch noch einen *Schildauswuchs*, so daß schließlich ein gegliedertes Schildblatt daraus resultiert (Abb. 7, Fig. 36). *Podophyllum* ist also die erste dicotyle Pflanze, bei der „Übergipfelung" gefunden wurde; da die jüngsten Blattstadien von *Allium cepa* und *Podophyllum* sich völlig gleichen, könnte man unter Umständen auf Grund der Entwicklungsgeschichte Rückschlüsse auf verwandtschaftliche Beziehungen zwischen *Polycarpicae* und Monocotylen (*Liliifloren*) ziehen.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Den präparativen Ergebnissen zufolge geht die Schildspreitenbildung in allen Fällen von einem sog. Ventralwulst aus, an dem sich erst sekundär eine bestimmte Zone zum eigentlichen Schildquerwulst herausentwickelt.

2. Trotz der Einheitlichkeit der Anlage kann man im Hinblick auf den Zeitpunkt des Erscheinens dieses Schildquerwulstes 3 verschiedene Gruppen von Primordialtypen unterscheiden.

3. Zur 1. Gruppe gehören Primordien, bei denen sich der Schildauswuchs relativ spät entwickelt: *Menispermum*, *Stephania*, *Begonia*, peltate *Araceen* und überhaupt die überwiegende Mehrheit peltater Pflanzen. Stipulare Ausgliederungen — soweit vorhanden — kommen *vor* dem Schildauswuchs zur Anlage. Bei allen Vertretern ist die Bifazialität der Primordien und auch der Blattstiele besonders auffallend und deutlich erkennbar. Entgegen der Annahme Trolls, die Blattstiele der *Araceen* entstünden von vornherein unifazial und Blattränder wären an ihnen niemals (auch an noch so jungen Stadien) zu erkennen, sind gerade diese zunächst abgeflacht-bifazial und mit prägnant hervortretenden Rändern ausgestattet und erfahren erst sekundär durch die intensive Tätigkeit des Dickenwachstums allmählich ihre Abrundung und Massivität.

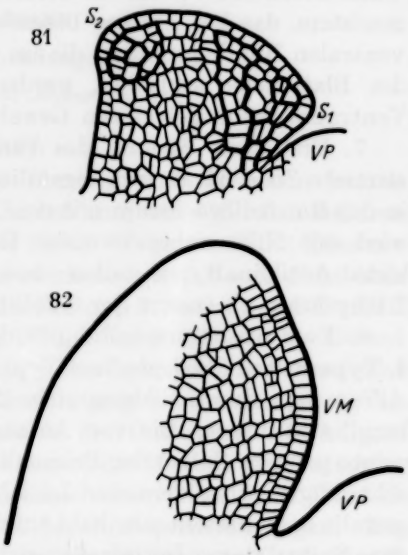


Abb. 16. Mediane Längsschnitte: Fig. 81 von *Podophyllum Emodi* (Segmentierung von S_1 nach dem zweischneidigen Typus, von S_2 nach dem 3-Zellrhythmus). Fig. 82 *Saxifraga peltata* mit Ventralmeristem *VM*. Fig. 81, 93mal, Fig. 82, 157mal.

4. Bei der 2. Gruppe entstehen Medianstipel- und Schildauswuchs etwa gleichzeitig durch Anlage eines gleichmäßig ausgebildeten Ventralwulstes, eines sog. „Steges" (*Peperomia*, *Ceiba*, *Anthurium Veitchii* u. a.).

5. Die 3. Gruppe ist dadurch beachtenswert, daß sich an ihr der Schildauswuchs ganz besonders früh entwickelt, also noch vor dem Medianstipelquerwulst (*Saxifraga peltata* und *S. tellimoides*). Zu dieser

Gruppe können auch noch *Geranium* und *Lupinus* gerechnet werden; bei *Geranium* entsteht als Besonderheit der Blattstiel aus dem Unterblatt — bezogen auf andere ähnliche Blattypen von normalem Bau; es bildet sich nämlich hier aus dem quer verlaufenden primordialen Wulstrand der Schildauswuchs — im Gegensatz zu *Caltha*, wo dieser Rand zur Medianstipel ausgestaltet wird.

6. Auf allen medianen Längsschnitten peltater Blätter ist im Ventralwulst durch den Verlauf der horizontalen Zellreihen deutlich ein Ventralmeristem, das bei *Araceen* besonders lange tätig ist, zu erkennen. Die ventralen Bündelgruppen, die im fertigen Zustand den Leitbündelring des Blattstieles schließen, werden erst sekundär in dem durch das Ventralmeristem gebildeten Gewebe angelegt.

7. Erst nach Bildung des Ventralwulstes entwickelt sich eine bestimmte Zone daran zum eigentlichen Schildquerwulst und tritt damit in das Randzellwachstum mit ein. Das Randwachstum des Querwulstes wird mit Hilfe subepidermaler Randzellen, die sich nach dem Periklinal-Antiklinaltypus teilen, bewerkstelligt. Dabei lösen sich meist 2 Rhythmen ab (zuerst der 2-Zellrhythmus, später der 3-Zellrhythmus).

8. Eine Ausnahmestellung in der Schildblattentwicklung weist eine 4. Typenreihe (*Podophyllum*-Typ) auf, indem hier nämlich wie bei *Allium cepa* durch Bildung eines 2. dorsalen Scheitels eine „Übergipfelung" stattfindet. Die von Anfang an über den Vegetationspunkt geneigte primäre Spitze des Primordiums wächst zunächst mit Hilfe zweischneidiger subepidermaler Initialen; nachdem sie ihr Wachstum eingestellt hat, entsteht sehr bald auf der Dorsalseite des Blattes eine sekundäre Spitze, deren Initialzellen sich nach dem 3-Zellrhythmus des Periklinal-Antiklinaltypus teilen. Die primäre Spitze wächst später zu einer Ligula aus; der dorsale Auswuchs dagegen baut bei *Podophyllum* und *Diphylleia* das gesamte „Oberblatt" auf. Während zum „Unterblatt" der Blatteil wird, der einem Gesamtblatt des Normaltypus homologist, kann man im „Oberblatt" eine Neubildung erblicken, die sich — im Gegensatz zu *Allium* u. a. — hier in Stiel und wohlentwickelte gefiederte Schildspreite gliedert.

Literatur.

Roth, J.: Zur Entwicklungsgeschichte des Blattes, mit besonderer Berücksichtigung von Stipular- und Ligularbildungen. Planta (Berl.) **37**, 299 (1949). — Thielke, Ch.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und zur Physiologie panaschierter Blätter. Planta (Berl.) **36**, 2 (1948). — Beiträge zur Entwicklungsgeschichte unifazialer Blätter. Planta (Berl.) **36**, 154 (1948). — Troll, W.[1]: Über Diplophyllie und verwandte Erscheinungen in der Blattbildung. Planta (Berl.) **15**, 355 (1932). — Morphologie der schildförmigen Blätter. Planta (Berl.) **17**, 153 (1932). — Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. 1, Teil 2. Berlin 1939.

[1] Die Zitate „Troll 1932" beziehen sich sämtlich auf „Morphologie der schildförmigen Blätter".

Dr. Ingrid Roth, München 38, Botanisches Institut, Menzingerstr. 67.

Planta, Bd. 40, S. 377—390 (1952).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut in Göttingen.

ABHÄNGIGKEIT DES BLUTUNGSVERLAUFES VON BELEUCHTUNG UND BLATTZAHL.

(Untersuchungen an Kalanchoë Bloßfeldiana.)

Von

MAX HEIMANN.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Oktober 1951.)

Einleitung.

Vergleichende Versuche zwischen Blutung und Guttation hatten ergeben, daß der Verlauf der Wasserabscheidung unter gleichen äußeren Bedingungen verschieden ist (HEIMANN 1950). Werden nämlich Pflanzen in einem dampfgesättigten und temperaturkonstanten Raum dicht über dem Erdboden dekapitiert, so erfolgt die Blutung in einer 24-Std-Periodizität (SPEIDEL 1939, GROSSENBACHER 1939, WHITE 1938 u. a.), während die Guttation überwiegend durch den Beleuchtungswechsel bestimmt wird. Die Maxima und Minima der Blutung sind ebensowenig an bestimmte Tagesstunden gebunden wie die der Guttation. Nur hängen erstere von der Zeit der Köpfung ab, während die Maxima der Guttation bei einem 12stündigen Licht-Dunkelwechsel etwa 6 Std nach Dunkelbeginn und die Minima in der Mitte der Lichtperioden liegen. Die Rhythmik der Guttation läßt sich bis zu einem gewissen Grade durch die Länge der Licht- und Dunkelzeiten variieren. Während also die Blutung des blattlosen Sproßstumpfes deutlich die Tätigkeit der Wurzel widerspiegelt und unabhängig vom Wechsel der Beleuchtung verläuft, tritt bei der Guttation die photoperiodisch beeinflußte Reaktionsweise des beblätterten Sprosses hinzu. Um diesen Übergang von der „Wurzelrhythmik" zum periodischen Guttationsverlauf näher kennenzulernen, wurden in den nachstehenden Versuchen die Sprosse entweder direkt über dem Wurzelhals oder in verschiedenen Höhen mit steigender Anzahl der Blätter dekapitiert.

Pflanzenmaterial und Methodik.

Für die Versuche wurden kräftige, 2jährige Pflanzen von Kalanchoë Bloßfeldiana verwendet. Sie trugen meist 8—12 Blattpaare, waren 40—50 cm hoch und hatten infolge ihrer Langtagsbehandlung nicht geblüht. Zur Anpassung an die Versuchsbedingungen kamen die Pflanzen erst für 3 Tage in die Guttationskammer, in der die relative Luftfeuchtigkeit gleichmäßig auf 98—99% gehalten, die Temperatur auf 20° C und die Lichtintensität während der Beleuchtungsperioden auf 2250 Lux eingestellt war (vgl. HEIMANN 1950, S. 160). Anschließend wurden die

Pflanzen gegossen und dann unter Wasser dekapitiert. Auf den Stengelstumpf wurde mit Hilfe einer kleinen Gummimuffe ein Blutungsrohr (2mal rechtwinklig gebogenes Glasrohr) gesetzt, das mit destilliertem Wasser gefüllt war. Dann kamen die Pflanzen sofort wieder in den Versuchsraum zurück. Dieser war in einem Dunkelzimmer im Keller des Instituts aufgestellt, wo er nur geringen Schwankungen der Außentemperatur unterlag (Innentemperatur konstant). Die Registrierung der Blutung wurde automatisch außerhalb des Versuchsraumes vorgenommen. Sie erfolgte mit einer Apparatur (Abb. 1 und 2), die nach ähnlichem Prinzip konstruiert war wie die von BOSE (1928) und HEYL (1933).

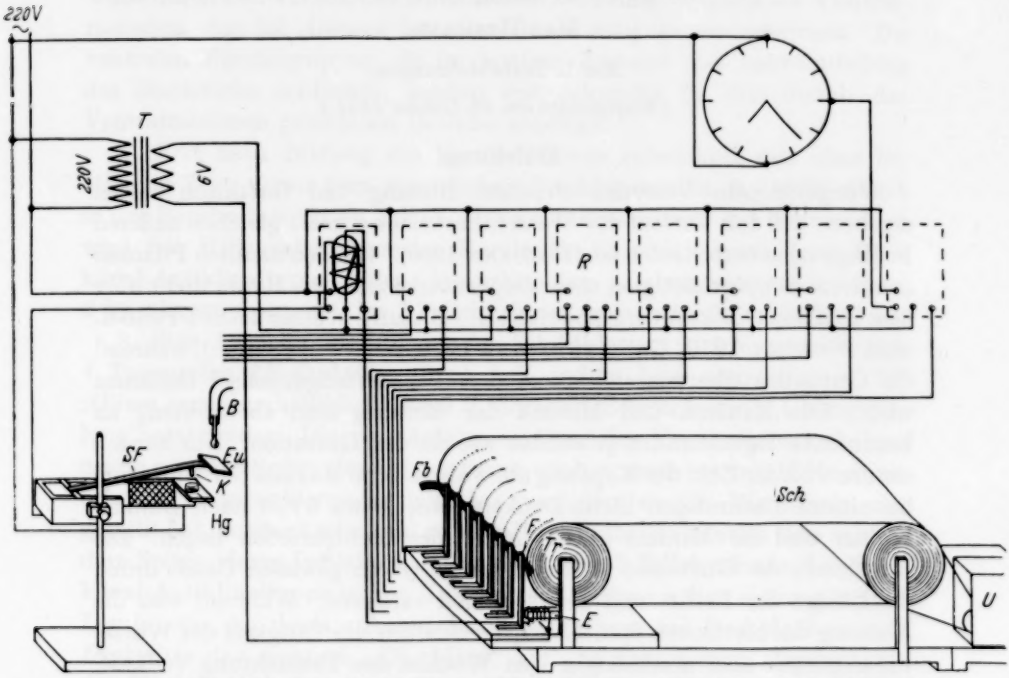


Abb. 1. Gesamtübersicht der Apparatur zur automatischen Registrierung der Blutung. Erklärung im Text.

Aus dem Blutungsrohr *(B)*, dem zur Erzielung gleich schwerer Tropfen von 25 mg ein kalibriertes Kapillarröhrchen in die Ausflußöffnung gesetzt worden war, fielen die Tropfen auf eine Wippe *(W)*. Diese bestand im wesentlichen aus einer feinen Stahlfeder *(SF)*, deren freischwingendes Ende unterseits einen dünnen Kupferstift *(K)* trug. Durch das Gewicht des fallenden Tropfens wurde dieser Stift in ein kleines, mit Quecksilber gefülltes Messinggefäß *(Hg)* gedrückt und der Stromkreis geschlossen. Um ein stets quantitatives Herabrollen des Tropfens zu gewährleisten, fiel dieser auf ein Stückchen Eukalyptusblatt *(Eu)*, das auf eine Staniolfolie aufgezogen und auf dem freischwingenden Ende der Stahlfeder befestigt war[1]. Das Blattstückchen

[1] Eukalyptusblatt erwies sich nach zahlreichen vergeblichen Versuchen mit verschiedenen dünnen Überzügen und Auflagen auf das Ende der Stahlfeder als besonders geeignet, in einem wasserdampfgesättigten Raum den Tropfen mit Sicherheit abgleiten zu lassen. Paraffin, Fette, Rußüberzüge, Stückchen von Gänsefedern u. a. waren ebenso unbrauchbar wie dünne Metallüberzüge mit verschiedenen Oberflächenstrukturen.

wurde alle 2—3 Tage erneuert. Die Wippe konnte leicht durch Verschieben an einem Stativ der jeweiligen Pflanzenhöhe angepaßt werden. Der elektrische Kontakt wurde über einen Schaltschutz *(R)* (Vertex Type 15), der die Stromstärke von 1,5 Amp. auf $^1/_{100}$ Amp. herabsetzte, geschlossen. Ein Zusammenkleben der Kontakte konnte somit vermieden werden. Beim Schließen des Stromkreises durch den fallenden Tropfen zog ein Elektromagnet *(E)* die Feder *(F)* mit dem Schreibstift (*St*) an (Abb. 2). Dieser drückte mit Hilfe eines Farbbandes *(Fb)* einen Punkt auf die rotierende Trommel *(Tr)*, über die sich ein 22 cm breites Schreibband *(Sch)* aus Millimeterpapier bewegte. Ein Uhrwerk transportierte das Schreibband in 1 Std 20 mm vorwärts. Zur Kontrolle dieser Bewegungsgeschwindigkeit wurde durch Schließen eines elektrischen Kontaktes an einer Uhr jede halbe Stunde ein Zeitzeichen auf das Band gesetzt. Die Abstände zwischen den einzelnen Punkten, die durch die fallenden Tropfen auf das Schreibband gedrückt wurden, gestatteten unschwer, den Verlauf der Blutung abzulesen.

Während eines Versuches konnte gleichzeitig die Wasserabscheidung von 7 verschiedenen Pflanzen nebeneinander auf dem Schreibband aufgezeichnet werden.

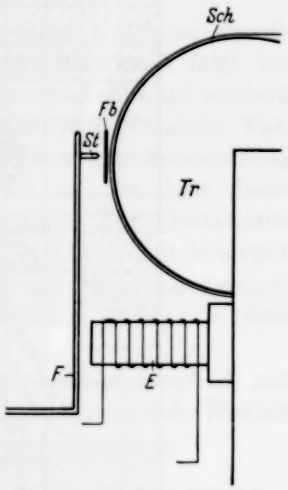


Abb. 2. Schreibvorrichtung. Erklärung im Text.

Versuchsergebnisse.

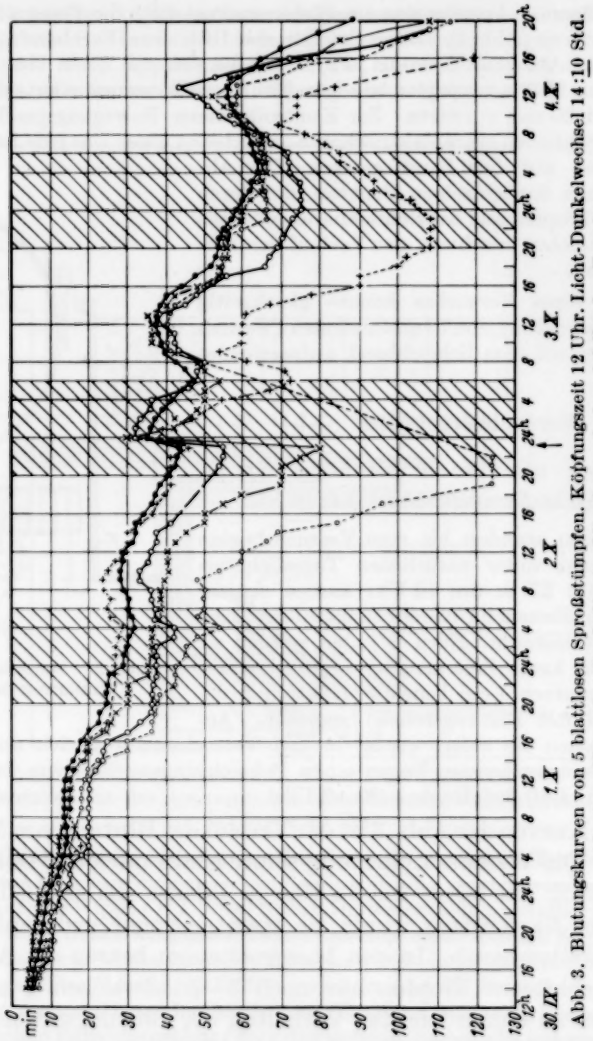
1. Blutung aus einem blattlosen Sproßstumpf. Licht-Dunkelwechsel 14:10 Std [1].

Die Pflanzen standen bis zum Versuchsbeginn im Gewächshaus unter natürlichen Tageslichtverhältnissen. Am 27. 9. um 12 Uhr kamen sie zur Einstellung auf die neuen Untersuchungsbedingungen in den Guttationsraum. Nach 3 Tagen wurden sie aus diesem für kurze Zeit herausgenommen, unter Wasser bis auf einen 1 cm hohen Sproßstumpf dekapitiert und mit Blutungsrohren versehen. Anschließend kamen sie sofort wieder in den Versuchsraum zurück und erhielten wie an den vorhergehenden Tagen einen Beleuchtungswechsel von 14 Std Licht (6—20 Uhr) und 10 Std Dunkel (20—6 Uhr).

Aus den Kurven der Abb. 3 ist der Verlauf der Blutung von 5 Pflanzen zu ersehen. Die Wasserabscheidung setzte gleich nach der Dekapitation ein und betrug am 30. 9. um 14 Uhr je Pflanze bis zu 16 Tropfen je Stunde. Am Nachmittag wurde sie etwas geringer und sank auch in der Nacht weiter herab. In den Morgenstunden betrug die Anzahl der stündlich gebluteten Tropfen nur noch 3—5. Zwischen 4 und 6 Uhr kam es dann zu einem leichten Verhalten der Blutungsintensität. Die Tropfenzahl blieb auch in den folgenden Stunden auf gleicher Höhe oder stieg etwas an. Gegen 12 Uhr setzte eine deutliche Verminderung ein, die sich über den Nachmittag und den größten Teil der Dunkelstunden erstreckte. Erst am frühen Morgen wurde der tiefste Stand erreicht. Dann stieg die Blutung bei den meisten Pflanzen wieder an

[1] Die Dunkelzeiten sind immer unterstrichen.

und steigerte sich auch noch während 3—4 Std der Lichtperiode. Der Umschlag zum Absinken lag etwas früher als am Vortage. Anschließend sank die Tropfenzahl je Stunde bis in die Dunkelheit schnell herab.


0 min
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
12h
16
20
24h
4
8
12
16
20
24h
4
8
12
16
20
24h
4
8
12

zum Beginn der Beleuchtung. Wie an den Tagen zuvor, so stieg auch nun wieder in den Vormittagsstunden die Zahl der gebluteten Tropfen und erreichte ihre maximale Steigerung zwischen (9) 11 und 13 Uhr. Der dann folgende starke Abfall erstreckte sich über die 2. Hälfte der Lichtperiode und ging noch 4—6 Std in die Dunkelheit hinein. Nun folgte wieder ein Intensitätswechsel. Die Blutung stieg kontinuierlich an und erreichte ihren Höhepunkt in der folgenden Lichtzeit zwischen 9 und 13 Uhr. Dieser relativ steile Anstieg der Wasserabscheidung schlug dann in einen noch stärkeren Abfall um, der bis zur Dunkelheit und wohl auch noch in sie hinein ging.

Dieser Versuch zeigt, daß der Blutungsverlauf blattloser Sproßstümpfe (Wurzelblutung) einer deutlichen 24-Std-Rhythmik folgt, bei der die Lage der Maxima nicht vom Beleuchtungswechsel abhängt, sondern von der Dekapitationszeit bestimmt wird. Selbst eine plötzliche Veränderung des Wasserhaushaltes der Pflanze durch starke Bewässerung veränderte diese Rhythmik nur vorübergehend, um sie dann desto deutlicher wieder in Erscheinung treten zu lassen. Der Guttationsverlauf ist bei gleichem Licht-Dunkelwechsel von 14:10 Std hingegen umgekehrt: Seine Maxima liegen annähernd in der Mitte der Dunkelperioden und die Minima im 1. Drittel der Lichtzeit (Heimann 1950, S. 190).

Wiederholte Versuche im 12stündigen Beleuchtungswechsel mit verschiedenen Dekapitationszeiten zeigten diesselbe rhythmische Wiederkehr des Blutungsmaximums, je nach der Zeit der Köpfung.

2. Sproßblutung mit einem Blattpaar. Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

Am 25. 10. wurden 5 Pflanzen um 16 Uhr bis auf je 1 Blattpaar, das 6—8 cm über dem Boden stand, entblättert und hier dekapitiert. Wie an den vorhergegangenen Tagen erhielten die Pflanzen abwechselnd 12 Std Licht von 8—20 Uhr und 12 Std Dunkelheit von 20—8 Uhr. Die Blutung setzte nach dem Köpfen bei den einzelnen Pflanzen zeitlich unterschiedlich ein (Abb. 4). Eine Pflanze begann ihre Wasserabscheidung wenige Minuten nach der Dekapitation, bei anderen dauerte es fast 4 Std, bevor der 1. Tropfen registriert werden konnte. Allen Pflanzen gemeinsam war die fallende Tendenz ihrer Blutungstätigkeit. Diese dauerte während der ganzen Dunkelzeit an und ging bis in die Hälfte der folgenden Lichtperiode (26. 10.) hinein. Dann blieb die Zahl der gebluteten Tropfen bis auf eine Ausnahme auf gleicher Höhe oder stieg an. Zwischen 15 und 17 Uhr lag die maximale Wasserabscheidung. Die dann einsetzende starke Verminderung führte bei einigen Pflanzen noch in der Dunkelperiode bis zum Stillstand der Blutung.

In diesem Versuch ist noch kein sichtbarer Einfluß des einen Blattpaares auf den Verlauf der Wasserabscheidung zu erkennen. Wenn die

Blutung auch durch die vorgeschrittene Jahreszeit schwächer und von kürzerer Dauer war, so deutet die Steigerung in der Lichtperiode doch unzweifelhaft auf die bekannte 24stündige Rhythmik hin, die durch die Dekapitation ausgelöst wird.

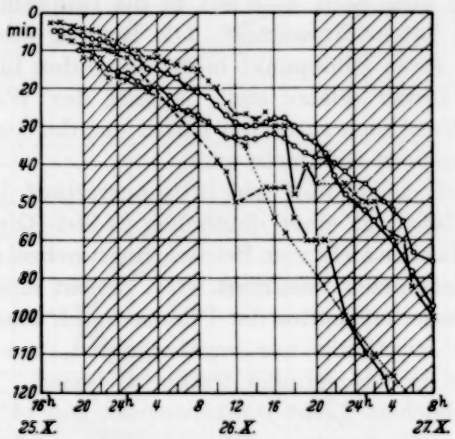


Abb. 4. Blutungskurven von Pflanzen mit je einem Blattpaar. Köpfungszeit 16 Uhr; Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

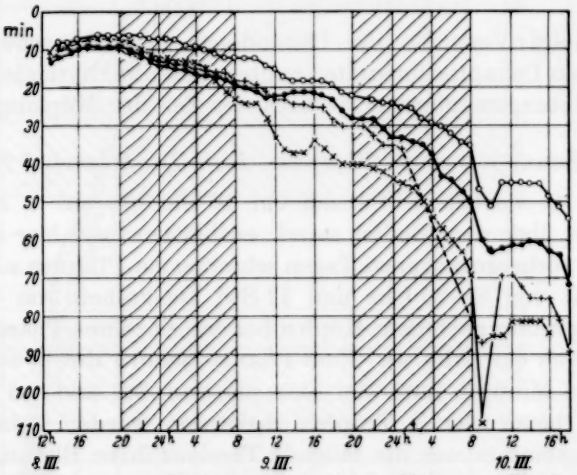


Abb. 5. Blutungskurven von Pflanzen mit je einem Blattpaar. Köpfungszeit 12 Uhr; Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

Der folgende Versuch (Abb. 5) ist auch mit *einem* Blattpaar durchgeführt worden, jedoch im März, also nach Beendigung der ungünstigen winterlichen Wachstumsverhältnisse. Die Blutung setzte erst ein, nachdem der Sproßstumpf eine kurze Zeitlang Wasser aus dem Blutungsrohr eingesogen hatte. Dann steigerte sie sich in den folgenden 3—5 Std, blieb ungefähr ebenso lange auf gleicher Höhe und verringerte sich

langsam während der ganzen Dunkelheit. Auch in der nächsten Lichtperiode (9. 3.) ging der Abfall nach einem kurzen Verhalten noch bis gegen 12 Uhr weiter. Nun blieb die Wasserabscheidung konstant oder steigerte sich etwas. Zwischen 16 und 17 Uhr setzte dann eine Verminderung der Tropfenzahl ein, die während der ganzen Nacht andauerte und am nächsten Morgen (10. 3.) gegen 9—10 Uhr ihr Minimum erreichte. Anschließend stieg sie einige Stunden an und sank am Nachmittag wieder ab.

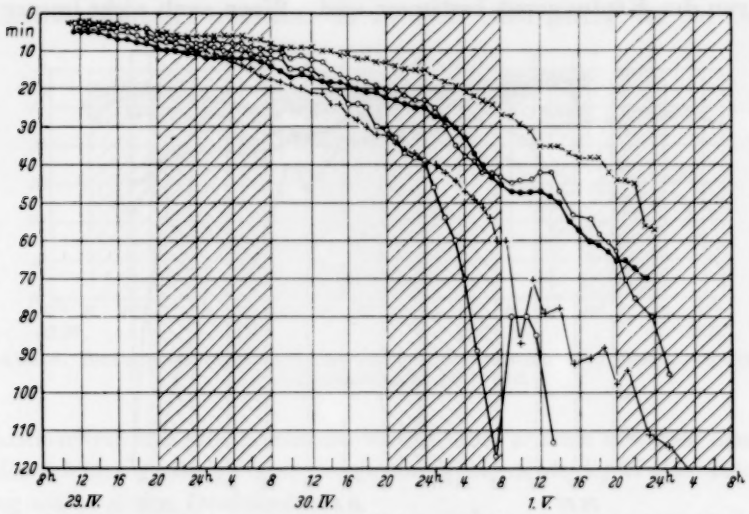


Abb. 6. Blutungskurven von Pflanzen mit je 3 Blattpaaren. Köpfungszeit 10 Uhr; Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

Auch in diesem Versuch ist bei einer gesteigerten Gesamtintensität der Blutung die durch die Dekapitation gesteuerte Rhythmik unverkennbar.

3. Sproßblutung mit 3 Blattpaaren. Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

Hatte ein ausgewachsenes Blattpaar noch keinen Einfluß auf den Gang der Blutung, so war ein solcher vielleicht von 3 Blattpaaren zu erwarten. Die Köpfung der 5 Versuchspflanzen erfolgte über dem 3. unteren Blattpaar am 29. 4. um 10 Uhr. Drei Pflanzen sogen anfangs noch Wasser aus den Blutungsrohren ein; dann verlief die Wasserabscheidung stärker als in den vorhergehenden Versuchen (Abb. 6). So blutete um 11 Uhr 1 Pflanze alle $2^1/_4$ min einen Tropfen, eine andere alle $2^3/_4$ min usw. Nachmittags verringerte sich die Tropfenzahl etwas. In der 12stündigen Dunkelperiode blieb sie bei 3 Pflanzen annähernd auf gleicher Höhe, während sie bei den übrigen absank. In der folgenden Lichtzeit (30. 4.) ging die fallende Tendenz bis gegen 10 Uhr; dann hielt

sich die Wasserabscheidung 2—4 Std lang etwa konstant und sank anschließend weiter ab. Dieser Abfall dauerte während der restlichen Licht- und fast der ganzen folgenden Dunkelperiode bis zum Beleuchtungsbeginn am 1. 5. Zwischen 9 und 12 Uhr fand bei einigen Pflanzen abermals ein Anstieg statt, während die Blutung der anderen entweder konstant blieb oder sich senkte. In den folgenden Stunden setzte dann eine erhebliche Verminderung der Wasserabgabe ein.

Die Blutungskurven zeigen also auch hier eine 24stündige Rhythmik, die von der Köpfungszeit bestimmt wird. Wenn auch nicht immer ein

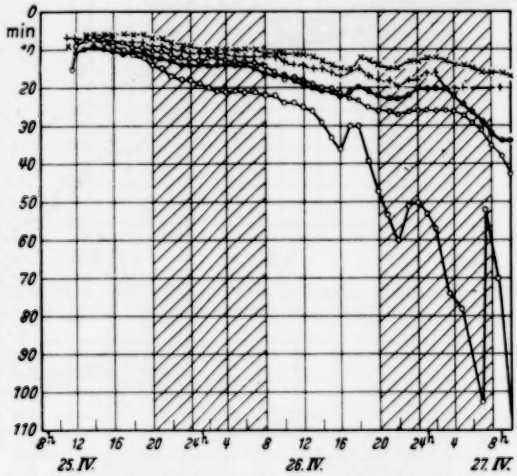


Abb. 7. Blutungskurven von Pflanzen mit je 6 Blattpaaren. Köpfungszeit 10 Uhr; Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

deutlicher Anstieg bei der täglichen Wiederkehr der Dekapitationszeit (10 Uhr) festzustellen ist, so findet sich doch im Gang der Wasserabscheidung vielfach zwischen 9 und 12 Uhr wenigstens ein Verhalten der Blutungsintensität, das auf eine rhythmische Tätigkeit schließen läßt. Sind 3 Blattpaare auch noch nicht ausreichend, den Blutungsverlauf photoperiodisch zu steuern, so ist doch ein leichter hemmender Einfluß auf die Dekapitationsrhythmik nicht zu verkennen.

4. Sproßblutung mit 6 Blattpaaren. Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

In diesem Versuch wurden die 12 unteren ausgewachsenen Blätter nach der Dekapitation an den 20—25 cm hohen Sprossen belassen. Die Köpfung erfolgte am 25. 4. um 10 Uhr. Für eine kurze Zeit sogen die Pflanzen Wasser aus den Blutungsrohren auf; dann begann die Wasserabscheidung. Sie steigerte sich bis 14 Uhr und hielt sich in den Nachmittagstunden auf gleicher Höhe oder sank etwas herab (Abb. 7). In der Dunkelheit trat während der ersten 4—6 Std eine leichte Verminde-

rung der Blutung ein; dann blieb sie konstant und sank erst gegen das Ende der Dunkelperiode erneut ab. Auch im Licht verringerte sich am 26. 4. die Tropfenzahl weiter.

Gegen Nachmittag erfolgte Umkehr: Die Blutung steigerte sich einige Stunden, sank dann jedoch noch im Licht wieder ab. Erst 2 Std nach Beginn der Dunkelheit setzte erneut eine Steigerung ein, die etwa 4 Std anhielt und dann wieder in Abfall umschlug.

Der Verlauf der Blutung läßt diesmal etwas mehr den Einfluß des beblätterten Sprosses erkennen. Er ist zwar noch gering, da die Deka-

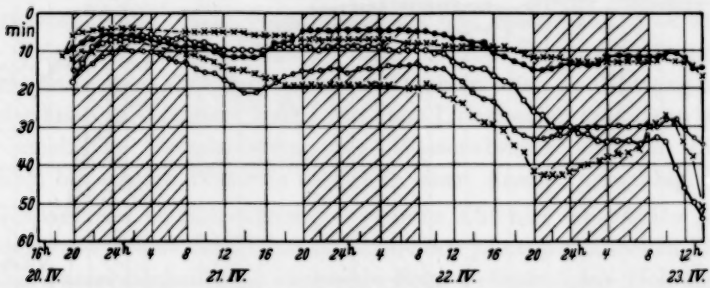


Abb. 8. Blutungskurven von Pflanzen mit je 8 Blattpaaren. Köpfungszeit 18 Uhr; Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

pitationsrhythmik sehr hemmend wirkte, aber *er zeigt sich doch deutlich in den leichten Anstiegen* oder der gleichen Intensität der Wasserabscheidung *während der Dunkelzeiten.*

5. Sproßblutung mit 8 Blattpaaren. Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

Am 20. 4. wurden um 18 Uhr 5 Pflanzen oberhalb des 8. Blattpaares dekapitiert; die unteren 8 ausgewachsenen Blattpaare blieben am Stumpf stehen. Die 30 cm hohen Sproßstümpfe sogen noch eine kurze Zeitlang Wasser aus den Blutungsrohren ein. Nach 15 min konnte bei einer Pflanze der 1. Tropfen registriert werden; die anderen folgten dann nach und nach. Bei allen steigerte sich die Blutung in den ersten 4—8 Std der Dunkelperiode (Abb. 8); dann verringerte sie sich langsam und sank auch bei Beleuchtung meist noch etwas herab. Im Licht steigerten 2 Pflanzen nach 6 Std deutlich ihre Wasserabscheidung, 2 weitere hielten sie auf gleicher Höhe und die letzte verminderte sie bis 2 Std vor Beginn der Dunkelheit. Keine der Pflanzen verlangsamte während der anschließenden Dunkelperiode ihre Blutung; die Tropfenzahl stieg bei einigen sogar etwas an. Erst mit dem nächsten Lichtbeginn (22. 4.) setzte eine stärkere Abnahme ein, die bei den meisten Pflanzen während der ganzen Hellzeit andauerte. In der folgenden Dunkelheit stieg die Blutung bei 2 Pflanzen wieder an, 2 weitere

veränderten ihre Intensität nicht und nur eine zeigte eine Abnahme. Im Licht (23. 4.) steigerten alle Pflanzen noch 2—3 Std ihre Wasserabscheidung; dann folgte ein starker Abfall.

Die beiden regulierenden Komponenten des Blutungsverlaufes, der Beleuchtungswechsel und die rhythmischen Folgen der Dekapitation haben sich also immer mehr zugunsten der ersteren verschoben. In den Dunkelperioden findet entweder eine leichte Erhöhung der Blutung statt oder sie hält ihre Intensität bei, während im Licht meist eine

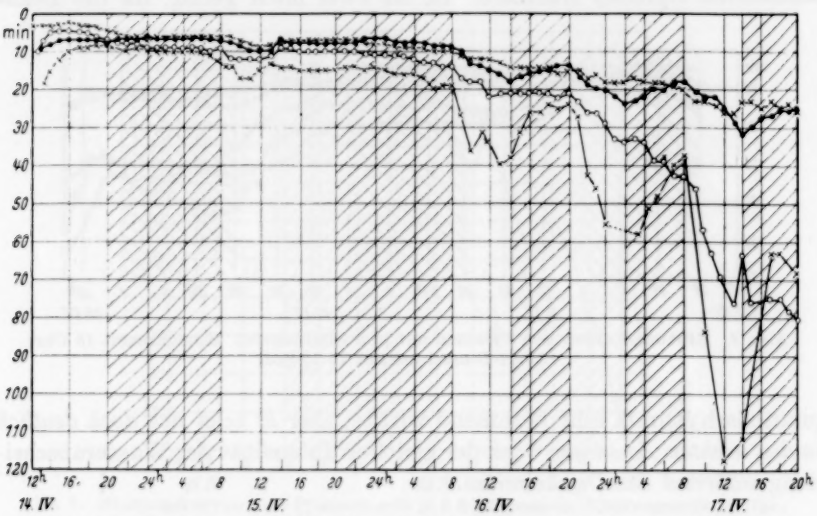


Abb. 9. Blutungskurven von Pflanzen mit je 8 Blattpaaren und einem Nebentrieb. Köpfungszeit 12 Uhr; Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

Abnahme der Wasserabscheidung festzustellen ist. Die Köpfungsrhythmik macht sich aber auch noch in der Weise bemerkbar, daß in der Zeit zwischen 16 und 20 Uhr leichte rhythmische Absätze auftreten.

6. Sproßblutung mit 8 Blattpaaren und 1 Nebentrieb. Licht-Dunkelwechsel 12:12 und 6:6 Std.

Die Dekapitation von 4 Pflanzen auf 30 cm Höhe erfolgte am 14. 4. um 12 Uhr. Außer den unteren 8 Paaren ausgewachsener Blätter blieb an jeder Sproßbasis ein 12—15 cm hoher Nebentrieb mit 10 bis 14 kleinen bis mittelgroßen Blättern. In den ersten beiden Tagen wurde ein Beleuchtungswechsel von 12:12 Std gegeben und dann ein solcher von 6:6 Std (Abb. 9).

Während 3 Pflanzen nach der Köpfung noch einige Minuten Wasser aus den Blutungsrohren aufnahmen, begann 1 Pflanze sofort kräftig zu bluten. Der jahreszeitliche Einfluß (vgl. HEIMANN 1950) zeigte sich auch

diesmal deutlich an der gesteigerten Wasserabgabe. So wurden z. B. zwischen 13 und 14 Uhr von einer Pflanze 21 und von 15—16 Uhr 26 Tropfen registriert. Die Blutung ließ dann in den späten Nachmittagsstunden etwas nach; nur bei einer Pflanze wurde sie bis zum Beginn der Dunkelperiode noch größer. In den Dunkelstunden trat nach einer ganz kleinen anfänglichen Senkung der Wasserabscheidung keine weitere Verminderung mehr ein. Erst mit dem Einschalten des Lichtes (15. 4.) erfolgte bei den einzelnen Pflanzen ein unterschiedlich starker Abfall, der 2—4 Std andauerte. Die Tropfenzahl stieg dann für einige Stunden wieder an und hielt sich bis in die Dunkelheit hinein auf gleicher Höhe. Hier verminderte sie sich dann nach 4—6 Std bis zum Beleuchtungsbeginn (16. 4.) und darüber hinaus während der ganzen 6stündigen Lichtzeit. Erst im Dunkeln stieg die Blutung erneut an oder blieb unverändert hoch. Mit dem Lichtbeginn trat dann wieder eine erhebliche Verminderung der Wasserabscheidung ein, die im Dunkeln bei einigen Pflanzen erneut in einen Anstieg umschlug.

Der Wechsel im Beleuchtungsrhythmus läßt hier *bei erhöhter Anzahl der belassenen Blätter* deutlicher als bisher den photoperiodischen Einfluß auf die Wasserabscheidung erkennen: Beim $\frac{6}{6}$stündigen Hell-Dunkelwechsel *gleicht bei 2 Pflanzen die Blutung dem Guttationsverlauf unter gleichen Belichtungsverhältnissen.*

7. Sproßblutung mit 8 Blattpaaren und 3 Nebentrieben. Licht-Dunkelwechsel $\frac{12}{12}$ Std.

Eine weitere Steigerung der Blattzahl ließ nun eine völlige Übereinstimmung mit dem Guttationsverlauf erwarten. So wurden in diesem Versuch nach der Dekapitation außer 8 Paaren ausgewachsener Blätter an der Sproßbasis noch 3 Nebentriebe von je 12—15 cm Höhe mit 8—10 kleinen bis mittelgroßen Blattpaaren belassen. Alle Pflanzen sogen nach der Köpfung Wasser aus den Blutungsrohren ein. Nach 10 min wurden die ersten Tropfen registriert. In den folgenden 2—3 Std steigerte sich die Blutung und ließ dann in den Nachmittagsstunden etwas nach (Abb. 10). Bei 3 Pflanzen begann um 18 Uhr ein leichter Anstieg, der in der Dunkelheit weiter fortgesetzt wurde oder sich auf gleicher Höhe hielt. 6—7 Std nach Dunkelbeginn erfolgte bei den meisten Pflanzen die stärkste Wasserabscheidung, die sich bis zur Einschaltung des Lichtes erst langsam, dann in verstärktem Maße verringerte. Im Licht setzte nach 6 Std (4. 4.) wieder eine Steigerung der Blutung ein, die bis zum Dunkelbeginn andauerte und sich dann in gleicher Stärke noch 4—6 Std lang fortsetzte. In der 2. Hälfte der Dunkelperiode ging die Tropfenzahl etwas zurück und fiel ganz erheblich mit dem nächsten Lichtbeginn (5. 4.) ab. Zwischen der 4. und 6. Std

dieser Hellzeit lag ein ausgeprägtes Minimum. Anschließend stieg die Tropfenzahl wieder stark an und wurde auch im Dunkeln noch 4—6 Std mit gleicher Intensität fortgesetzt. Dann erfolgte ein rascher Abfall, der sich bis in die Mitte der Lichtperiode des 6. 4. hineinzog.

Wenn in diesem Versuch auch eine weitgehende Angleichung der Blutung an den Guttationsverlauf erfolgt ist, so ist eine völlige Übereinstimmung noch nicht erzielt. Wohl liegen die Maxima der Wasserabscheidung bei diesem 12:12stündigen Beleuchtungswechsel vielfach

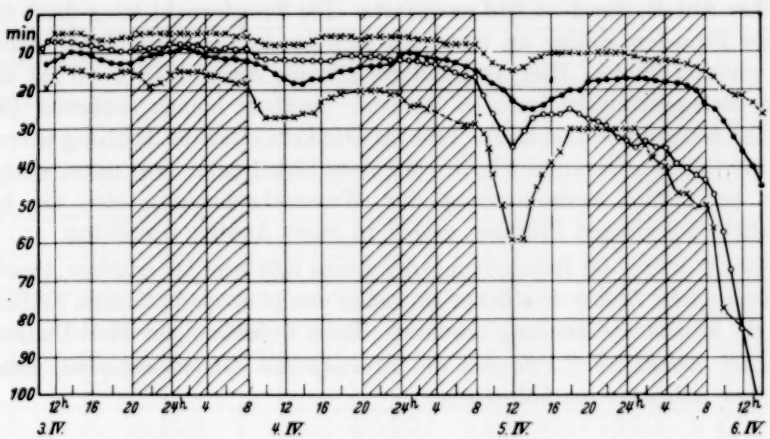


Abb. 10. Blutungskurven von Pflanzen mit je 8 Blattpaaren und 3 Nebentrieben. Köpfungszeit 10 Uhr; Licht-Dunkelwechsel 12:12 Std.

4—6 Std nach Dunkelbeginn und die Minima in den Lichtperioden, aber die Amplituden, die Schwingungen zwischen diesen Extremen der Blutungstätigkeit sind bei der Guttation ausgeprägter. *Anscheinend übt die Dekapitationsrhythmik auch bei einer so großen Anzahl von Blättern noch ihren Einfluß aus.*

Besprechung.

Die vorstehenden Untersuchungen haben gezeigt, daß die Wirkung des Beleuchtungswechsels auf den Gang der Blutung eines Sprosses in einem temperatur- und feuchtigkeitskonstanten Raum entscheidend von der Zahl der Blätter bestimmt wird, die nach der Dekapitation am Sproß verbleiben. Der Verlauf der Wasserabscheidung kann daher in gewissen Grenzen beliebig variiert werden. Je nach der Versuchsanordnung, d. h. je nach der Zahl der Blätter, kann die 24stündige Periodizität des blattlosen Sproßstumpfes, die von der Köpfungszeit abhängt, in den Gang der Guttation, der vom Wechsel der Beleuchtung bestimmt wird, übergeführt werden.

Über die Ursachen der 24stündigen Dekapitationsrhythmik besteht noch ebensowenig Sicherheit wie über den photoperiodisch gesteuerten

Verlauf der Guttation. Wahrscheinlich ist für die Entstehung der Blutungsperiodizität des blattlosen Sproßstumpfes nach der Köpfung der Wundreiz von ebensogroßer Bedeutung wie der Ausgleich der plötzlich veränderten Druckverhältnisse (SPEIDEL 1939). Außerdem dürften rhythmische Schwankungen des Wachstums und des Turgors beteiligt sein (ENDERLE 1951). Keineswegs ist jedoch die Blutungsperiodizität des Sprosses in ihrem zeitlichen Ablauf identisch mit einer vielleicht in der normalen Pflanze vorhandenen rhythmischen Tätigkeit der Wurzel. Die Wurzeltätigkeit ist vielmehr variabel und weitgehend abhängig von den Einwirkungen, die auf den Sproß erfolgen. So ist der Verlauf der Wasserabscheidung je nach der Köpfungszeit ein anderer, und demzufolge ist auch wahrscheinlich die Wasseraufnahme entsprechenden Schwankungen unterworfen. Ob bei unserer Versuchspflanze Aufnahme und Abgabe von Wasser zeitlich im gleichen Wechsel vor sich gehen oder ob beide Vorgänge asynchron verlaufen, wie es Versuche an Getreidekeimlingen gezeigt haben (ENGEL und HEIMANN 1949), müssen weitere Photometerversuche zeigen. Während HAGAN (1949) an dekapitierten Wurzeln von *Helianthus annuus* unter konstanten Bedingungen tagesperiodische Schwankungen der Wasseraufnahme festgestellt hat, deren Maxima um Mitternacht und deren Minima mittags liegen, deuten die vorliegenden Versuche über die Verschiebung des Blutungsverlaufes in Abhängigkeit von der Zahl der Blätter darauf hin, daß sich die Wurzeltätigkeit den jeweiligen Bedingungen, denen der Sproß unterliegt, angleicht. Findet etwa eine zeitweise Steigerung der Wasserabgabe beim beblätterten Sproß im Dunkeln statt, so wird sich diese doch wohl entsprechend auf die Wasseraufnahme auswirken. Ebenfalls dürfte der Beleuchtungseinfluß auf den Wasserabgabeverlauf seine Reaktion in der Tätigkeit der Wurzel finden. Zeigen die Untersuchungen von HÖHN (1951) über die Beziehung zwischen Blutung und Guttation einen Mangel stofflicher Korrelation zwischen Wurzel und Sproß, so liegt hier zweifellos eine deutliche Wechselbeziehung im Wasserhaushalt der Pflanze vor.

In welcher Weise die beiden regulierenden Faktoren Licht und Dunkelheit auf die Bewegung des Wassers in der beblätterten Pflanze wirken, ist noch ungewiß. Eine Erklärung fände der zunehmende Einfluß des Beleuchtungswechsels auf den Gang der Blutung mit steigender Zahl der Blätter durch die Annahme einer lichtinduzierten Änderung der Permeabilität des Plasmas für Wasser. Ob diese Annahme richtig ist, können aber erst weitere Versuche zeigen.

Zusammenfassung.

1. Mit einer selbstregistrierenden Apparatur wurde in einem temperatur- und feuchtigkeitskonstanten Raum der Blutungsverlauf in

Abhängigkeit vom Beleuchtungswechsel und der Anzahl der Blätter, die nach der Dekapitation am Sproß verblieben, untersucht.

2. Die Blutung blattloser Sproßstümpfe erfolgte in einer 24stündigen Periodizität. Die Maxima lagen in der Wiederkehr der Köpfungszeit. Diese Dekapitationsrhythmik trat bis zu 3 Blattpaaren uneingeschränkt in Erscheinung.

3. Blieben 6—8 Paare ausgewachsener Blätter am geköpften Sproß, so machte sich ein zunehmender Einfluß des Beleuchtungswechsels auf den Gang der Wasserabscheidung bemerkbar. In den Lichtzeiten sank die Blutung mehr oder weniger stark ab und stieg im Dunkeln entweder leicht an oder hielt sich unverändert auf gleicher Höhe.

4. Wurden außer den 8 Blattpaaren am Sproß an seiner Basis noch 1—3 Nebentriebe mit einer größeren Anzahl von kleinen bis mittelgroßen Blättern belassen, so steigerte sich die Einwirkung des Licht-Dunkelwechsels auf die Wasserabgabe immer mehr, so daß diese dann in zunehmendem Maße der der Guttation glich, die bekanntlich neben einer endogenen Rhythmik hauptsächlich photoperiodisch gesteuert wird.

Literatur.

BOSE, J. C.: Die Pflanzenschrift und ihre Offenbarungen. Zürich u. Leipzig: Rotapfel 1928. — ENDERLE, W.: Tagesperiodische Wachstums- und Turgorschwankungen an Gewebekulturen. Planta (Berl.) **39**, 570 (1951). — ENGEL, H., u. M. HEIMANN: Weitere Untersuchungen über periodische Guttation. Planta (Berl.) **37**, 437 (1949). — GROSSENBACHER, K. A.: Autonomic cycle of rate of exudation of plants. Amer. J. Bot. **26**, 107 (1939). — HAGAN, R. M.: Autonomic diurnal cycles in the water relations of nonexuding detopped root systems. Plant. Physiol. **24**, 441 (1949). — HEIMANN, M.: Einfluß periodischer Beleuchtung auf die Guttationsrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 157 (1950). — HEYL, J. G.: Über den Einfluß von Außenfaktoren auf das Bluten der Pflanzen. Planta (Berl.) **20**, 294 (1933). — HÖHN, K.: Beziehung zwischen Blutung und Guttation bei *Zea mays*. Planta (Berl.) **39**, 65 (1951). — SPEIDEL, B.: Untersuchungen zur Physiologie des Blutens bei höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **30**, 67 (1939). — WHITE, PH. R.: Root-pressure an unappreciated force in sap movement. Amer. J. Bot. **25**, 223 (1938).

Dr. M. HEIMANN, Hannover-Herrenhausen,
Pflanzenpathologisches Institut der Hochschule für Gartenbau.

Planta, Bd. 40, S. 391—397 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

DER DRUCK IN SEINER BEDEUTUNG FÜR DAS WACHSTUM SUBMERSER WASSERPFLANZEN.

Von

FRITZ GESSNER.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Oktober 1951.)

In seinem Werke: „Der Rhein, Naturgeschichte eines deutschen Stromes", zitiert ROBERT LAUTERBORN (I. Band, 2. Hälfte, S. 298) ein „Natursonett" SCHIMPERs aus dem Jahre 1854, in dem folgende Verse stehen:

Das Wasser steigt — so trefft ihr Unfruchtbare,
Schmal ist das Blattwerk, dünn und fein gegliedert;
Schön breit wird alles, wie es sich erniedert:
Die Pflanze steigt — und blüht sofort, lätare!
Die helle Poesie, die wahre klare —
(Doch von Poeten schwerlich schon verliedert!).
Magie des Drucks! Ja Druckerleichterung gliedert
Tief unten schon was hoch sich offenbare!

Zum ersten Male taucht in diesen Zeilen die Idee auf, die bekannte Erscheinung der Heterophyllie der Wasserpflanzen, welche seither Anlaß zu so vielen morphologischen und physiologischen Untersuchungen gegeben hat, auf Unterschiede im Wasserdruck zurückzuführen.

Nun, diese Idee ist wieder in Vergessenheit geraten, denn in keiner Arbeit über Wasserpflanzen wird der Druck des Wassers in seiner eventuellen ökologischen Bedeutung in Betracht gezogen. Eine Ausnahme bilden nur die Untersuchungen von GLÜCK (1905), der eine Reihe von Wasserpflanzen (*Alisma*, *Sagittaria*, *Echinodorus* u. a.) in verschiedener Wassertiefe zog und hierbei feststellte, daß bei hohem Druck Wasserblattbildung, bei mittleren Drucken Schwimmblattbildung und in den obersten Wasserzonen Luftblattbildung gefördert wird (l. c. S. 268), doch schreibt er selbst zu diesen Befunden: „Es bleibt zunächst noch späteren Untersuchungen überlassen, die hier gemachten theoretischen Auseinandersetzungen über den Wasserdruck als gestaltbildenden Faktor einer experimentellen Prüfung zu unterziehen."

In der Meeresbiologie wird der Druck nur im Zusammenhang mit der sog. „Forbes-Linie" diskutiert, d. h. der unteren Grenze des Lebens im Meere, und im Institut Océanographique zu Paris wurden durch FONTAINE Hochdruckversuche gemacht, die zeigten, daß Algen

und Seetiere Drucke über 600 Atm nicht mehr aushielten. Lange Zeit glaubte man dementsprechend, daß die „Null-Linie" des Lebens bei 6000 m Tiefe läge, bis die schwedische „Albatross"-Expedition (1947/48) noch aus etwa 7800 m lebende Meerestiere emporholte (PETTERSSON 1951).

Neuesten Angaben zufolge (Naturwiss. Rundschau 4, 1951, S. 443) hat die dänische „Galathea"-Expedition im Philippinengraben sogar noch bei 10400 m Tiefe ein reiches Tierleben nachgewiesen. Damit dürfte die Debatte um die „Forbes"-Linie endgültig beendet sein, und zwar in dem Sinne, daß es eine solche Linie nicht gibt.

Die Frage, ob die *geringen* Druckunterschiede im Litoralgebiet eines Sees eine ökologische Bedeutung für die höhere Wasservegetation haben, läßt sich nur im Experiment entscheiden, da nur hier eine saubere Trennung von jenen anderen Faktoren erreicht werden kann, die sich ebenfalls mit der Wassertiefe ändern, vom Strahlungsklima und von der Beschaffenheit des Sediments.

Was das Strahlungsklima betrifft, so ist hier nicht allein an das Licht zu denken, das selbst in klaren Gewässern in einigen Metern Tiefe quantitativ und qualitativ anders beschaffen ist als an der Oberfläche, sondern vor allem auch an die UV-Strahlung mit ihrer starken formativen Wirkung. Da in diesem Wellenbereich die Extinktion in natürlichen Süßwässern eine sehr große ist und schon in 1 m Tiefe meist nur mehr $^1/_{10}$ der Oberflächenintensität vorhanden ist (GESSNER und DIEHL 1951), können UV-Wirkungen hier nie ausgeschaltet werden.

Über den Einfluß der Sedimentbeschaffenheit unterrichtet uns eine Arbeit THUNMARKS (1931), der im See Fiolen (Småland, Schweden) zeigen konnte, daß *Litorella uniflora*, *Lobelia dortmanna* und *Isoëtes lacustre* einen völlig anderen Habitus annehmen, je nachdem, ob sie auf Sand, Ton oder Gyttja wurzeln. Da wir nun wissen, daß mit zunehmender Wassertiefe auch schon im Litoral die Beschaffenheit des Sediments sich ändert, liegt hier wiederum ein Faktor vor, durch den der eventuelle Einfluß des Wasserdrucks verschleiert werden könnte.

Um nun in einwandfreier Weise zu klären, ob jene Druckunterschiede, wie sie an Standorten höherer Wasserpflanzen vorkommen, von Einfluß auf das Wachstum sein können, wurde im April 1951 in einem nach Süden gelegenen Gewächshaus des Botanischen Institutes mit folgenden Versuchen begonnen: Je drei 9 cm lange, eben in der ersten Entwicklung begriffene Sprosse von *Hippuris vulgaris* wurden in kleine mit Sand gefüllte Fläschchen gesteckt und diese an Drahtschlingen in große, 30 l fassende Flaschen gesenkt, in denen sich 10 l Wasser befanden. Hierauf wurden die Flaschen verschlossen und durch die Durchbohrung des Gummistopfens Preßluft eingeführt. Ein angeschlossenes Manometer gestattete den Druck bis auf eine gewünschte Höhe zu steigern. Auf diese

Weise wurden Überdrucke von 0, 0,25, 0,5, 0,75 und 1 Atm erzeugt, unter denen die Pflanzen nun 1 Woche lang sich selbst überlassen blieben. Danach wurde der Versuch abgebrochen und die Länge der Pflanzen gemessen. Die Abb. 1 und 2 zeigen das Ergebnis eines solchen Versuches. Wie wir erkennen, ist der Zuwachs zwischen 0 und 0,5 atü durchaus gleichmäßig, wogegen eine weitere Steigerung des Überdrucks auf 0,75 Atm zu einer vollständigen Wachstumshemmung führt. Bei 1 At ist der Zuwachs ebenfalls null.

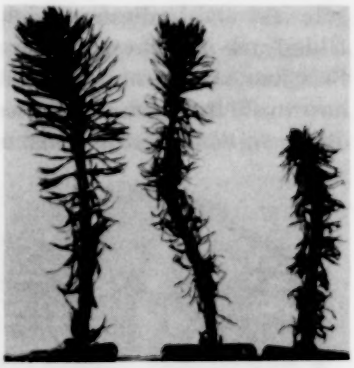


Abb. 1. Sprosse von *Hippuris vulgaris*, ursprünglich gleich lang, eine Woche lang bei 0 (links), bei 0,5 (Mitte) und bei 1 Atm (rechts) Überdruck gezogen.

Von dieser Zuwachshemmung war nicht nur der Gesamtsproß erfaßt worden, sondern auch die einzelnen Blätter, nur zeigten diese bereits bei 0,5 atü eine deutliche Wachstumsverringerung, wie folgende Tabelle 1 angibt.

Diese Messungen bezogen sich nur auf die Zuwachszone, also auf jene Blätter, die sich unter dem betreffenden Druck entwickelt hatten. Infolgedessen konnten bei 0,75 und bei 1 atü keine Messungen durchgeführt werden, da hier keine Zuwachszone vorhanden war.

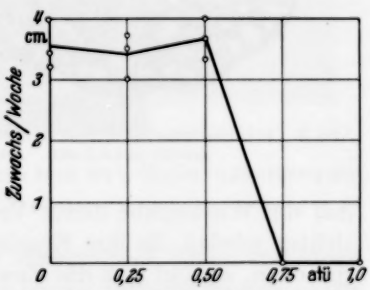


Abb. 2. Der wöchentliche Zuwachs von Hippuris-Sprossen in Beziehung zum Überdruck des Wassers.

Außer bei den Blättern zeigten sich auch in der Dicke der Hauptachse Unterschiede zwischen jenen Sprossen, die bei 0 und denen, die bei 0,5 atü gezogen worden waren, ohne daß sich hier im Querschnitt anderweitige anatomische Änderungen nachweisen ließen (Abb. 3). Das Verhältnis der Achsendurchmesser bei 0 und 0,5 atü war 1 : 0,7.

Die soeben geschilderten Versuche lassen einen schwerwiegenden Einwand zu: Ist es wirklich der hydrostatische Druck, der für jene Wachstumshemmungen verantwortlich ist? Falls sich über dem Wasser Luft von verschiedenem Druck befindet, sind die Lösungsverhältnisse der Gase im Wasser ganz andere. Wenn dies auch bei dem Stickstoff gleichgültig sein dürfte, so besteht doch die Möglichkeit, daß der geänderte Gehalt an O_2 und CO_2 irgendeinen Einfluß auf das Wachstum ausübt.

Tabelle 1. *Blattlängen bei Hippuris, 1 Woche in Überdruck gezogen.*

Überdruck	Blattlänge
0 Atm	19—21 mm
0,25 Atm	19—21 mm
0,5 Atm	12—15 mm

Um diese Frage zu prüfen, wurde in einigen Versuchen der Überdruck nicht durch Preßluft, sondern durch Quecksilber erzeugt. An die nun bis oben mit Wasser gefüllten Flaschen wurde ein Manometerrohr angebracht und in dieses so viel Quecksilber eingefüllt, bis der gewünschte Überdruck erreicht war. Da sich nun überhaupt kein Luftraum in den Flaschen befand, unterschieden sich die einzelnen Versuchsflaschen jetzt nur durch den hydrostatischen Druck und die geringen Änderungen, die dieser in den Dissoziationsverhältnissen im Wasser hervorgerufen hat.

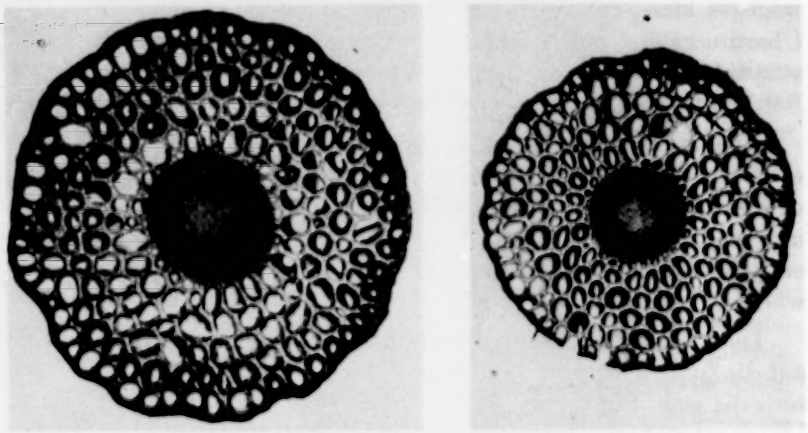


Abb. 3. Achsenquerschnitt von Hippuris-Sprossen in der Zuwachszone, links bei 0 atü, rechts bei 0,5 atü. Aufnahmen bei gleicher Vergrößerung.

Auf die Wiedergabe dieser Versuche im einzelnen kann aber hier verzichtet werden, da ihre Ergebnisse ganz genau denen mit Preßluft entsprachen, sowohl was die Zuwachsgröße als auch was die Wachstumshemmung betrifft.

Damit darf als bewiesen angesehen werden, daß ein Überdruck über 0,5 Atm das Längenwachstum der *Hippuris*-Sprosse vollständig hemmt. Dabei ist bemerkenswert, daß die Wachstumshemmung keineswegs dem Druckanstieg proportional ist; vielmehr zeigt sich zwischen 0 und 0,5 atü also in jenem Bereich der Drucke, die am Standort der Pflanzen vorkommen, kein Einfluß, wogegen eine leichte Erhöhung des Druckes über 0,5 atü das Längenwachstum vollkommen stillegt.

In weiteren Versuchen wurde nun geprüft, ob diese unerwartete Empfindlichkeit gegenüber erhöhtem Wasserdruck sich nur auf die ersten Entwicklungsstadien erstreckt, oder auch später nachweisbar ist. Die Versuche wurden darum im Mai mit voll entwickelten und reichlich beblätterten Wassersprossen wiederholt. Das Ergebnis, durch Abb. 4 veranschaulicht, war das gleiche wie früher, nur daß jetzt auch schon bei Überdrucken von 0,5 Atm in manchen Fällen Wachstumshemmung eintrat.

Von besonderem Interesse ist es nun, näheren Einblick in die Kausalkette der Druckwirkung zu erhalten, festzustellen, wo der hydrostatische Druck angreift und wie er schließlich zur Wachstumshemmung führt. Leider kann aber darüber bisher nur Negatives ausgesagt werden. Zunächst lag natürlich nahe, an eine Assimilationshemmung zu denken. Um dies zu prüfen, wurden die *Hippuris*-Sprosse in lange Reagensgläser eingeschlossen, die mit Wasser bekannten O_2-Gehaltes gefüllt waren. Der Gummistopfen, der die Reagensgläser abschloß, enthielt eine dick-

Abb. 4. Ältere Wassersprosse von Hippuris 1 Woche lang bei 0 (links), 0,25 (Mitte) und 0,75 atü gezogen.

wandige Glaskapillare, durch die sich der Wasserdruck außen und innen ausgleichen konnte ohne daß — infolge des langen Diffusionsweges — der gebildete und im Wasser gelöste Sauerstoff entweichen konnte. Die so hergerichteten Reagensgläser wurden nun in die großen, wassergefüllten Druckflaschen gebracht und einem entsprechenden Hg-Druck ausgesetzt. Auch hier kann von der detaillierten Wiedergabe der Assimilationsbestimmungen, die mit der Winklermethode ausgeführt wurden, abgesehen werden, denn es ließ sich nicht nachweisen, daß durch Erhöhung des Überdruckes bis auf 1 Atm eine Änderung in der Assimilationsintensität verursacht worden wäre.

So muß denn vorläufig die Frage nach der Ursache der Druckwirkung unbeantwortet bleiben. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß mein Schüler H. Klein in Untersuchungen, über die er nach Abschluß seiner Arbeit selbst berichten wird, nachweisen konnte, daß es bei Submersen (*Hippuris*, *Potamogeton*-Arten) unter Druck von 1 atü zu einer Ausscheidung organischer Substanzen (wahrscheinlich Assimilationsprodukten) kommt.

welche erheblich (oft um das Doppelte) das Maß der normalen Ausscheidung übersteigt. Es muß also mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß durch die Druckerhöhung in ähnlicher Weise wie durch Schüttelwirkung (KAHL 1951) eine Änderung der Plasmastruktur ausgelöst wird, durch die auf dem Wege über eine Permeabilitätserhöhung ein gesteigerter Austritt von Bau- und Wirkstoffen herbeigeführt wird.

Eine andere Frage, die sich aus unseren Beobachtungen ergibt, ist die der Allgemeingültigkeit. Zu diesem Zwecke wurden Versuche mit *Cabomba aquatica* und *Myriophyllum brasiliense* durchgeführt. Beide Pflanzen reagierten schwächer auf Druckerhöhung, doch war auch bei

Abb. 5. Sprosse von *Myriophyllum brasiliense* 2 Monate bei 0, 0,3, 0,5 und 1 atü gezogen.

ihnen die hemmende Wirkung unverkennbar (Abb. 5). Über Versuche an *Cryptocoryne*-Arten, die besonders deutlich auf Wasserdruck reagieren, wird mein Schüler A. FRICKHINGER gesondert berichten.

Nach diesen Erfahrungen dürfte nicht zweifelhaft sein, daß die Reaktion auf geänderten Wasserdruck bei höheren Wasserpflanzen eine recht allgemeine Erscheinung ist. Wenn wir auch glauben, daß die „Magie des Drucks" nicht für das gesamte Formbildungsgeschehen im Wasser verantwortlich und vor allem das Problem der Heterophyllie viel komplizierter ist, als sich SCHIMPER dies vor 100 Jahren vorgestellt hat, so dürfte doch gezeigt sein, daß es sich bei dem hydrostatischen Druck um einen Faktor handelt, dessen ökologische Bedeutung nicht unterschätzt werden darf. Wenn wir an die Tatsache denken, daß Submerse, die in größeren Wassertiefen wachsen, oft Hemmungserscheinungen zeigen, die nicht allein aus Licht- oder Assimilatmangel erklärt werden können, wenn wir uns ferner daran erinnern, daß Pflanzen strömenden Wassers oft die gleichen anatomischen und morphologischen Veränderungen erleiden wie solche in tieferen Wasserschichten, so bietet der Druckfaktor vielleicht die Möglichkeit zu einer Erklärung. Damit aber ergibt sich gleichermaßen die Frage, ob eine Pflanze imstande ist, sich modifikativ oder konstitutionell einem erhöhten Druck anzupassen.

Zusammenfassung.

1. Sprosse von *Hippuris vulgaris* wurden verschiedenen hydrostatischen Drucken ausgesetzt. Dabei ergaben sich zwischen 0 und 0,5 atü keine Änderungen in der Wachstumsrate. Erhöht man jedoch den Überdruck über 0,5 Atm, so kommt es zu einer vollständigen Wachstumshemmung.

2. Eine Wirkung des Überdruckes auf die Assimilationsrate konnte nicht festgestellt werden.

3. Auch bei *Myriophyllum*, *Cabomba* und *Cryptocoryne* läßt sich eine Wachstumshemmung bei Druckanstieg erkennen.

Literatur.

Gessner, Fr., u. A. Diehl: Die Wirkung natürlicher Ultraviolettstrahlung auf die Chlorophyllzerstörung von Planktonalgen. Arch. Mikrobiol. **15**, 439 (1951). — Glück, H.: Biologische und morphologische Untersuchungen über Wasser- und Sumpfgewächse. 1. Teil. Jena 1905. — Kahl, H.: Über den Einfluß von Schüttelbewegungen auf Struktur und Funktion des pflanzlichen Plasmas. Planta (Berl.) **39**, 346 (1951). — Lauterborn, R.: Der Rhein, Naturgeschichte eines deutschen Stromes. Ber. naturforsch. Ges. Freiburg **33** (1934). — Pettersson, H.: Die schwedische Tiefsee-Expedition 1947/48. Naturwiss. **38**, 125 (1951). — Thunmark, Sv.: Der See Fiolen und seine Vegetation. Acta phytogeogr. Suecica **2** (1931).

Prof. Dr. Fritz Gessner, München 38, Menzingerstr. 67.

Planta, Bd. 40, S. 398—406 (1952).

Aus dem Institut für Mikromorphologie der Deutschen Forschungshochschule Berlin-Dahlem (Leitung: Prof. Dr. H. Ruska).

Über Beziehungen der Kernäquivalente von Schizophyten zu den Mitochondrien höher organisierter Zellen.

Von

Gottfried Bringmann.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Oktober 1951.)

A. Zellkern und Kernäquivalent.

Den höheren Pflanzen mit typischem Zellkern werden die pflanzlichen Organismen ohne solchen, die Schizophyten, gegenübergestellt. Es liegt die Vermutung nahe, daß die beiden Organismenstämme in einer phylogenetischen Beziehung zueinander stehen. Zwischenformen sind zwar nicht bekannt, doch werden spezifisch färbbare, sich selbst reproduzierende Zellorganelle der Schizophyten als „Kern" mit nur *einem* Chromosom, d. h. als freies Chromosom aufgefaßt (Robinow, Tulasne). Bei dieser Annahme verzichtet man auf die klassische morphologische Definition des Zellkerns und läßt nur die zytochemische und funktionelle Definition gelten. Piekarski hat die genannte Definition im einzelnen näher formuliert. Richtiger ist es wohl, die nur zytochemisch und funktionsmäßig entsprechend definierten Zellorganelle der Schizophyten als Kernäquivalente zu bezeichnen.

B. Nachweis der Kernäquivalente der Schizophyten.

Die charakteristische Stoffgruppe der höheren Zellkerne sind Desoxyribonukleinsäure-(DNS-)Verbindungen. Sie lassen sich chemisch durch die Feulgen-Reaktion, durch die von Piekarski-Robinow entwickelte HCl-Giemsa-Methode, sowie durch die Färbung mit Methylgrün (Pollister und Leuchtenberger, Kurnick) nachweisen. Mit den gleichen Methoden wie bei typischen Kernen fanden Stille, Piekarski, Robinow, Boivin und Mitarbeiter u. a. gesetzmäßig lokalisierte und sich selbst reproduzierende DNS-Komplexe, d. h. Kernäquivalente, auch in den meisten pflanzlichen Organismen *ohne* echten Kern. Der Nachweis gelang jedoch nicht in allen Fällen, vielmehr blieben Gruppen unter den Schizophyten übrig, in denen weder die klassische Feulgen-Reaktion, noch die Methode von Piekarski-Robinow den Nachweis von Kernäquivalenten erbringen konnte. In diesen Organismen fanden sich jedoch

bei Färbung nach GIEMSA ohne vorausgehende Säurehydrolyse basophile Körper, die in der älteren Literatur im allgemeinen mit der Sammelbezeichnung „Volutin" benannt worden sind. Im Volutin vermutete man Speicherstoffe, bzw. freie Nukleinsäure (MEYER, REICHENOW), jedoch nicht vom Typ der DNS.

Es erschien uns wesentlich, kernäquivalente Zellorganelle auch in dieser Gruppe von Organismen nachzuweisen. In vergleichend licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen analysierten wir zunächst die basophilen Körper von blaugrünen Algen (*Lyngbya aerogineo-coerulea* GOMONT, *Lyngbya amplivaginata* VAN GOOR) und später auch von gewissen Typen von Corynebakterien. Nach den bisherigen Methoden gaben die basophilen Körper dieser Organismen zunächst keine positive Feulgen-Reaktion. Da sich auch im übrigen Zellraum keine Feulgen-positiven Strukturen fanden, wären die untersuchten Objekte als kernlos zu betrachten gewesen.

Wir gingen von der Annahme aus, daß DNS in freier Form, d. h. durch HCl-Hydrolyse herauslösbar, in den basophilen Körpern enthalten sein könne. Unter diesem Gesichtspunkt behandelten wir die Organismen mit Lanthanacetat, um die eventuell vorliegende DNS zu fällen und dann mit den üblichen Methoden nachweisen zu können. Unsere Vermutung bestätigte sich, da wir auf diese Weise eine positive Feulgen-Reaktion erhalten konnten.

In Paralleluntersuchungen ließ sich durch Färbung mit Methylgrün gleichfalls DNS in den basophilen Körpern nachweisen. Als einziger DNS-haltiger Struktur dieser Organismen kommt ihnen die Bedeutung von Kernäquivalenten zu.

C. Begleitstoffe der Kernäquivalente.

a) Ribonukleinsäurekomplexe.

Die basophilen Körper, die sich als DNS-Komplexe erwiesen hatten, waren gleichzeitig mit Pyronin färbbar, d. h. sie enthielten auch *Ribo*nukleinsäure (RNS) (BRACHET). Da auch die höher organisierten Kerne z. B. im Nukleolus RNS enthalten, wäre dieser Untersuchungsbefund an den Kernäquivalenten der Schizophyten in Übereinstimmung gewesen mit dem zytochemischen Aufbau höherer Kerne. Möglicherweise kommt jedoch den RNS-Komplexen noch eine weitergehende physiologische Funktion zu.

b) Phosphatkörper.

Wie wir in einer früheren Arbeit bereits beschrieben haben, blieben nach fermentativer Herauslösung der Nukleinsäureverbindungen im elektronenmikroskopischen Bild der untersuchten blaugrünen Algen an den Orten der Kernäquivalente dunkle Körper sichtbar (Abb. 1a). Diese

sind in verdünnten Säuren und Alkalien löslich. Auf Grund ihres chemischen Verhaltens und ihrer metachromatischen Färbbarkeit mit Toluidinblau (nach WIAME) haben wir die elektronenmikroskopisch sichtbare Begleitsubstanz der Kernäquivalente der blaugrünen Algen als Phosphat- bzw. Metaphosphatkörper gedeutet. Elektronenmikroskopische Schmelz-

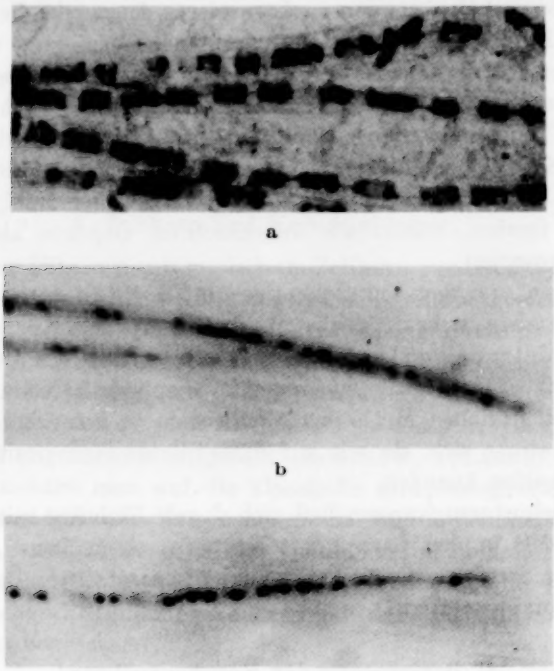


Abb. 1a—c. *Lyngbya amplivaginata*. a Phosphatkörper nach fermentativem Abbau von Glykogen und Proteinen bzw. Nukleinsäureverbindungen durch Diastase und Trypsin („Merck"). Elektronenbild 80 kV, 4200:1. b Vitalfärbung mit Janusgrün 1:10000, 5 min. c Der gleiche Zellfaden wie b, mit Alkohol entfärbt und nach GIEMSA gefärbt. Die Präparation ist an frei schwimmenden Fäden unter dem Mikroskop vorgenommen worden. Hieraus erklärt sich der Lagewechsel der Objekte. 2800:1.

versuche und Analysen des Säureextraktes von Mykobakterien (H. RUSKA, BRINGMANN, NECKEL und SCHUSTER) unter gleichzeitiger elektronenmikroskopischer Kontrolle des Lösungsvorganges bestätigten das Vorliegen von Phosphaten, speziell von Metaphosphaten, im Bereich der Kernäquivalente. MINCK und MINCK, sowie WINKLER und KÖNIG erzielten an Extrakten von Corynebakterien entsprechende analytische Ergebnisse. BRINGMANN wies bei Corynebakterien elektronenmikroskopisch die Fällbarkeit der Phosphate als Bleisalz und lichtmikroskopisch die Überführung in Silbersalz nach, und kam durch spezifische Färbung

der Metaphosphatkomplexe mit Toluidinblau und durch elektronenmikroskopische Befunde bei Aktinomyceten zu ähnlichen Ergebnissen.

Man könnte annehmen, daß die Phosphate im Bereich der Kernäquivalente als Reservestoffe für den Nukleinsäurestoffwechsel der Kernäquivalente dienen. Da vergleichbare zytochemische Beziehungen zu den Zellkernen höherer Pflanzen jedoch fehlen, suchten wir nach anderen Zusammenhängen.

c) Lipoide.

DRAWERT beschreibt eine lokalisierte Sudan-III-Färbung in blaugrünen Algen, die wir an unseren Objekten bestätigt fanden. GRAFFI und MAAS hatten durch Fluorochromierung mit Benzpyren in blaugrünen Algen und Bazillen *Lipoide* nachgewiesen. Außerdem konnte GRAFFI bei Bazillen definierte Körper mit Janusgrün färben. GRAFFI und MAAS vermuteten bereits als Ergebnis der Färbung mitochondrienartige Körper in diesen Organismen. MUDD kam bei Mykobakterien unter Berücksichtigung elektronenmikroskopischer Befunde und gleichzeitiger Färbung mit Janusgrün zu einer entsprechenden Auffassung.

Wir versuchten an blaugrünen Algen Färbungen mit dem typischen Mitochondrienfarbstoff *Janusgrün* ($1:10^4$, 5 min). Wir wählten *Lyngbya amplivaginata* VAN GOOR, weil diese Art größenmäßig und im Bau der Einzelzelle gewissen Bakterien sehr nahesteht. Sie ist zudem elektronenmikroskopisch bei ihrer geringen Größe gut durchstrahlbar und liegt lichtmikroskopisch noch im Bereich einer günstigen optischen Auflösung.

Die Färbung definierter Körper (Abb. 1 b) gelingt wie die der Mitochondrien nur bei Luftzutritt und nur im Vitalzustand, d. h. die färbbare Substanz ist sehr labil, und die Färbung ist nur möglich, wenn der Farbstoff nicht fermentativ zur Leukoform reduziert wird. Nach Entfärbung der mit Janusgrün gefärbten Körper durch Alkohol lassen sich an den gleichen Orten mit *Giemsa* basophile Körper färben (Abb. 1 c). *Ein sukzessiver Vergleich der sich mit Janusgrün anfärbenden Orte mit den basophilen Körpern der Kernäquivalente im identischen Zellfaden beweist, daß beide Färbungen von den gleichen Zellorten angenommen werden* (Abb. 1 b und c).

Unter denselben Bedingungen fanden wir mit Janusgrün färbbare Körper bei *Corynebacterium diphtheriae* und *Mycobacterium avium* und konnten damit MUDDs Befunde an Mykobakterien bestätigen.

D. Mitochondrienäquivalente.

Fassen wir die vorausgehend wiedergegebenen Befunde zusammen, so kommen wir zu dem Ergebnis, daß in den Schizophyten im Bereich der als Kernäquivalente angesprochenen *Desoxy*ribonukleinsäure-Komplexe zusätzlich *Ribo*nukleinsäure, Phosphate und Lipoide nachweisbar sind, d. h. die gleichen 3 Stoffgruppen, die GRAFFI, JUNKMANN und

CLAUDE für die von ihnen untersuchten Mitochondrien tierischer Zellen angeben. In den höher organisierten Zellen sind Zellkern und Mitochondrien völlig selbständige Zellorganelle. Beziehungen der Mitochondrien zum Nukleolus werden allerdings vermutet (HIRSCH).

Da bei den Schizophyten an den gleichen Zellorganellen DNS- und RNS-Komplexe, Phosphate und Lipoide nachgewiesen werden, liegt der Gedanke nahe, diesen Organismen im *Bereich der Kernäquivalente* Mitochondrien-äquivalente Organelle zuzuschreiben.

Die oben erwähnte Anordnung größerer Phosphatmengen im Bereich der Kernäquivalente würde hieraus eine Erklärung finden, denn nach CLAUDE sind 75—80% der Lipoide der Mitochondrien als *Phospho*-Lipoide anzusehen. Von einem Teil der Phosphate mußten wir annehmen, daß er *anorganischer* Natur sei und wahrscheinlich teilweise als Metaphosphat vorliegt. Der Nachweis hierfür läßt sich, wie oben bereits angedeutet, durch die metachromatische Färbbarkeit mit Toluidinblau erbringen (WIAME, BRINGMANN), die wir auch an Lösungen polymerer Metaphosphate erhielten. Dem Charakter der Mitochondrien würde das keineswegs widersprechen. Fand doch CLAUDE $^2/_3$ des säurelöslichen Phosphors und 32% des Phosphors im Gesamtextrakt der Mitochondrien als *anorganischen* Phosphor. Der restliche Anteil der säurelöslichen Phosphorverbindungen der Mitochondrien besteht nach CLAUDE aus Adenosintriphosphat, Hexosephosphat usw.

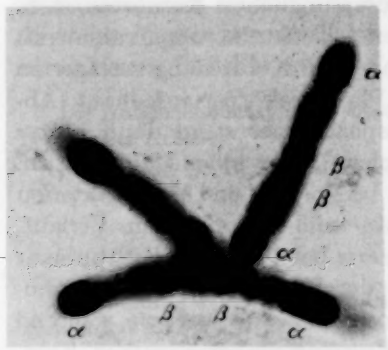
CLAUDES elektronenmikroskopische Bilder von Mitochondrien zeigen infolge des *Phosphat*-Gehaltes die gleiche hohe Elektronenstreuung wie die Phosphate im Bereich der Kernäquivalente der Schizophyten. Auch die von BERNHARD demonstrierten Darstellungen von Mitochondrien weisen in gleiche Richtung.

v. EULER definiert die Mitochondrien als Fermentzentren und bezeichnet sie in ihrer Eigenschaft als selbständige Organelle, als „Enzymoide". Zur Frage, inwieweit die mitochondrienäquivalenten Körper im Bereich der Kernäquivalente als Orte mit nachweisbarer Fermenttätigkeit gelten können, ließen sich nachstehende Feststellungen treffen:

Die Anhäufung hoher Phosphatmengen läßt das Vorhandensein von Phosphatasen als selbstverständlich erscheinen. Den lokalisierten Fermentnachweis in den „polaren Körpern", d. h. den Kernäquivalenten bzw. Mitochondrienäquivalenten einer größeren Anzahl von Bakterien haben WACHSTEIN und PISANO erbracht.

Den Nachweis von Oxydoreduktionssorten, den BIELIG, KAUSCHE und HAARDICK mit der Methode der Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid zu Formazan entwickelt haben, konnten wir bei *Bacillus polymyxa* an den Orten der Kernäquivalente, d. h. der Mitochondrienäquivalente, führen. Demnach wären diese Orte gleichzeitig als *Fermentzentren* anzusehen.

Die Konzentration von DNS einerseits, von RNS, Phosphaten und Lipoiden andererseits in Körpern die als Fermentzentren zu betrachten sind, stützt unsere Auffassung, daß die Zellzentren der Schizophyten in den Grundzügen ihres Baues und damit wohl auch ihrer Funktion in Beziehung stehen zu den *Zellkernen und* zu den *Mitochondrien* der höher organisierten



a b

Abb. 2a u. b. *Mycobacterium avium*. a Vollentwickelte Phosphatkörper im Bereich der Ursprungskernäquivalente bzw. der polar verbliebenen Tochterkernäquivalente (*αα*). Im Aufbau befindliche Phosphatkörper im Bereich der median verlagerten Tochterkernäquivalente (*ββ*). Elektronenbild 80 kV, 6800:1. b Vollentwickelte Phosphatkörper im Bereich der Kernäquivalente an den älteren Zellpolen (*αα*). Im Aufbau befindliche Phosphatkörper im Bereich der Kernäquivalente an den jüngeren Zellpolen (*ββ*). Elektronenbild 80 kV, 6800:1.

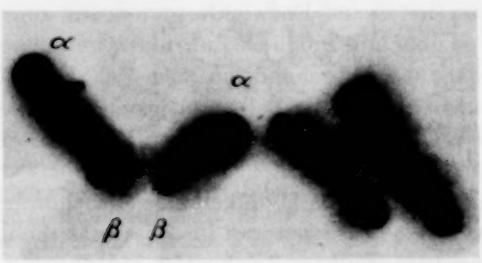


Abb. 2c. *Corynebacterium diphtheriae*. Phosphatkörper wie in b. Elektronenbild 80 kV, 12000:1.

Zellen und somit wohl *phylogenetisch* das gemeinsame Ausgangsorgan für eine spätere getrennte Entwicklung der beiden Zellorgane darstellen.

Bereits in den Zellzentren der Schizophyten ist die *onto*genetische Entwicklung der elektronenmikroskopisch sichtbaren Komponenten mit Mitochondriencharakter unabhängig von den kernäquivalenten Komponenten. Besonders günstig läßt sich dies bei Corynebakterien (Bring-

MANN) und Mykobakterien (H. RUSKA, BRINGMANN und Mitarbeiter) beobachten. Die elektronenmikroskopisch sichtbaren kontrastreichen Körper dieser Organismen sind von BRINGMANN sowie H. RUSKA, BRINGMANN und Mitarbeiter als Phosphatkörper im Bereich der Nukleinsäurekomplexe der Kernäquivalente erkannt und in ihrer Entwicklung beschrieben worden. An den Phosphatkörpern der blaugrünen Algen haben wir eine entsprechende Entwicklung beobachten können.

Nach einer Teilung der Kernäquivalente ist die Hauptmasse des begleitenden Phosphates im Raum des ursprünglichen Kernortes, d. h. im Bereich der an diesem Ort *verbliebenen* Tochterkernäquivalente zu finden (Abb. 2a—c, $\alpha\alpha$). Im Raum des nach der Kernteilung verlagerten Tochterkernäquivalents wird ein neuer Phosphatkörper aufgebaut (Abbildung 2a—c, $\beta\beta$). Die Größe der Phosphatkörper steigt dann bis zu einem für das jeweilige Alter der Kultur charakteristischen Maximum an.

Die Entwicklung der Phosphatkörper bei Coryne- und Mykobakterien nimmt innerhalb einer Kultur einen an- und absteigenden Verlauf, dessen Höhepunkt bei *Mycobacterium avium* bei 3 Wochen Kulturdauer liegt. In späteren Entwicklungsstadien der Kultur werden bei Mykobakterien und Corynebakterien die *Phosphatkörper abgebaut*, während die lichtmikroskopisch nachweisbaren *Nukleinsäurekomplexe der Kernäquivalente erhalten bleiben*.

E. Plastiden.

Die Plastiden der höher organisierten Zellen werden einerseits als von den Mitochondrien ableitbare Organelle angesehen, andererseits als selbständige Zellorganelle, die durch Teilung aus ihresgleichen hervorgehen. Legt man den ersten Entwicklungsvorgang zugrunde, so ergeben sich Perspektiven über eine mögliche indirekte phylogenetische Beziehung der Plastiden über die Mitochondrien zum Zellkern. Im zweiten Falle schließt die heute beobachtete Selbständigkeit der Plastiden nicht aus, daß sie sich im Laufe der phylogenetischen Entwicklung von den Mitochondrien her entwickelt haben.

Auf die funktionelle Selbständigkeit der Mitochondrien als Fermentzentren und damit als Organisatoren im Zusammenhang mit ihrer möglichen Ableitung vom Zellkern ist bereits hingewiesen worden. Unter dem gleichen Gesichtspunkt der indirekten phylogenetischen Beziehung zum Zellkern erscheinen gewisse Funktionen der Plastiden, wie die Plastidenvererbung, aber auch die zytologische Selbständigkeit dieser Organelle, in einem neuen Licht.

Zusammenfassung.

In den Zellzentren von Schizophyten können außer Desoxyribonukleinsäure — die den kernäquivalenten Charakter der Organelle

begründet — Ribonukleinsäure, Phosphate und Lipoide nachgewiesen werden. Das Vorhandensein dieser Stoffgruppen macht Beziehungen der Zellzentren zu den Mitochondrien höher organisierter Zellen wahrscheinlich. Desoxyribonukleinsäurekomplexe der Kernäquivalente und Phosphatkörper der Mitochondrienäquivalente haben — obwohl Komponenten *eines* Organells — eine gesonderte ontogenetische Entwicklung.

Der gemeinsame Ursprung der phylogenetischen Entwicklung von Zellkern und Mitochondrien bzw. von diesen ableitbaren Zellorganellen (Plastiden) wird als möglich angesehen. Die Rolle dieser Organelle als Organisationszentren erscheint durch die aufgezeigten Zusammenhänge unter neuen Gesichtspunkten.

Die Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft ermöglichte die Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H. Ruska und Herrn Dr. habil. A. Graffi danke ich für ihre Anregungen.

Literatur.

Bernhard, W.: Neuere cytologische Studien aus dem Pariser Krebsinstitut. Ref. auf der 3. Jahrestagg der Dtsch. Ges. für Elektronenmikroskopie Hamburg 1951. — Bielig, H., G. A. Kausche u. H. Haardick: Über den Nachweis von Reduktionsorten in Bakterien. Z. Naturforschg **4b**, 2 (1949). — Boivin, A., R. Tulasne et R. Minck: Sur la succession, dans le temps, des processus histologiques et biochimiques qui conditionnent la division de la cellule bactérienne. C. r. Acad. Sci. Paris **226**, 1869 (1948). — Boivin, A., et R. Vendrely: Le noyau des bactéries normales et des bactéries traitées par la pénicilline. Arch. Sci. phys. **1**, 307 (1947). — Der Kern der Bakterien. Extrait des Arch. Sci. phys. 1947. — Le noyau des bactéries. Presse méd. **37** (1948). — Brachet, J.: Der histochemische Nachweis der Pentose-Nucleinsäure. C. r. Soc. Biol. Paris Filiales Associées **133**, 88, 90 (1940). — Enzymologia (Den Haag) **10**, 87 (1941). — Archives de Biol. **53** (1941). — Bringmann, G.: Vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Oscillatorien. Planta (Berl.) **38**, 541 (1950). — Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die zytologische Natur der Granula von Corynebacterium diphtheriae. Zbl. Bakter. I Orig. **156**, 493 (1951). — Elektronenmikroskopische Studien über die Kernäquivalente und die Zellorganisation von Bacillus polymyxa. Zbl. Bakter. I Orig. **156**, 547 (1951). — Elektronenmikroskopische und lichtmikroskopische Studien zur Morphologie und Entwicklung von Streptomyces griseus Krainsky. Zbl. Bakter. I Orig. **157**, 349 (1951). — Licht- und elektronenmikroskopische Studien an Antibiotica-Formen von Colibakterien. Zbl. Bakter. I Orig. (im Erscheinen). — Vergleichende Darstellung der Kernäquivalente von Colibakterien im lichtmikroskopischen Färbeverfahren, im Phasenkontrast- und im Elektronenbild. Z. Hyg. (im Erscheinen). — Bringmann, G., u. J. G. Helmcke: Lichtoptische und elektronenoptische Mikroskopie in der Chemie. Chemiker-Ztg **28** (1950). — Claude, A.: The constitution of mitochondria and microsomes, and the distribution of nucleic acid in the cytoplasm of a leukemic cell. J. of Exper. Med. **1944**. — Claude, A., and F. Fullmann: An electron microscope study of isolated mitochondria. J. of Exper. Med. **1945**. — Drawert, H.: Zellmorphologische und zellphysiologische Studien an Cyanophyceen. 1. Mitt. Literaturübersicht und Versuche mit Oscillatoria Borneti Zukal. Planta

(Berl.) **37**, 161 (1949/50). — Euler, H. v.: Reaktionen an Nukleinsäuren und Nukleoproteiden. Angew. Chem. **1950**. — Graffi, A., u. H. Maas: Über die Eignung des Benzpyrens zu fluoreszenz-mikroskopischen Untersuchungen fett- und lipoidreicher Strukturen in lebenden Zellen und Mikroorganismen. Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. **39** (1940). — Graffi, A., u. K. Junkmann: Beitrag zum chemischen Aufbau normaler und maligner Zellen. Klin. Wschr. **1946**, Nr 5/6. — Hirsch, G. Ch.: Dynamik der Sekretionssysteme. Verh. der Dtsch. Zoologen in Kiel 1948 (1949). — Kurnick, N. B.: Methylgreen-pyronin. I. Basis of selective staining of nucleic acids. J. gen. Physiol. **33** (1950). — Meyer, A.: Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Ztg, Abt. I **62** (1904). — Minck, R., u. A. Minck: Über den Aufbau des Diphtheribacillus: Kernapparat und metachromatische Granulation. C. r. Acad. Sci. Paris **228**, 1313 (1949). — Mudd, S.: Neue Untersuchungen zur Bakterienzytologie. Ref. auf der 3. Jahrestagg der Dtsch. Ges. für Elektronenmikroskopie, Hamburg 1951. — Piekarski, G.: Cytologische Untersuchungen an Paratyphus- und Colibakterien. Arch. Mikrobiol. 8, 428 (1937). — Zum Problem des Bakterienzellkerns. Erg. Hyg. **26** (1949). — Pollister, A. W., and C. Leuchtenberger: The nature of the specifity of methyl green for chromatin. Zoology **35**, 111 (1949). — Reichenow, E.: Ergebnisse mit der Nuclealfärbung bei Protozoen. Arch. Protistenkde **61** (1928). — Robinow, C. F.: A study of the nuclear apparatus of Bacteria. Proc. roy. Soc. Lond., Biol. Sci. **130**, 229 (1942). — Cytological observations on Bact. coli, Proteus vulgaris and various aerobic spore-forming Bacteria with special reference to the nuclear structures. J. of Hyg. **43**, 413 (1944). — Addendum. In Dubos, The Bacterial Cell. Cambridge (Mass.): Harward-Univ. Press 1947. — Ruska, H., G. Bringmann, I. Neckel u. G. Schuster: Über den morphologischen und zytochemischen Aufbau von Mycobacterium avium Chester. Z. Mikrosk. (im Erscheinen). — Wachstein, M., and M. Pisano: A new staining technique for polar bodies. J. Bacter. **59**, 357 (1950). — Wiame, J. M.: Étude d'une substance polyphosphorée, basophile et métachromatique chez les levures. Biochim. et Biophys. Acta **1** (1947). — Das Vorkommen und das physiologische Verhalten von zwei Metaphosphatfraktionen in der Hefe. J. of Biol. Chem. **178** (1949). — Winkler, A., u. H. König: Zur Deutung elektronenoptischer Befunde an Bakterien. Zbl. Bakter. I Orig. **152**, 9 (1948). — Zollinger, H. U.: Zum qualitativen Nukleoproteingehalt der Mitochondrien. Experientia **6**, 14 (1950).

Dr. Gottfried Bringmann, Berlin-Dahlem, Faradayweg 16.
Institut für Mikromorphologie der Deutschen Forschungshochschule.

Planta, Bd. 40, S. 407—418 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz.

NACHREIFESTUDIEN AN *DATURA*-SAMEN.

Von

KARL HÖHN.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Dezember 1951.)

I. Einleitung.

Die Keimfähigkeit von Samen kann eine zeitlich aufsteigende bzw. periodisch wechselnde Tendenz aufweisen oder aber in irreversiblem Abstieg begriffen sein. Wir ordnen die zuerst genannten Zustände dem sog. „Nachreifestadium" ein, welches nach BÜNNING (1949) endogenen jahresperiodischen Zustandsänderungen unterworfen ist. Die Phase der irreversiblen Keimfähigkeitsverminderung kennzeichnet dagegen den Alterungsprozeß des Samens.

Das Nachlassen der Keimkraft alternder Samen geht mit stofflicher Insuffizienz parallel und ist, was z. B. den Gehalt an Vitamin B_1, Ascorbinsäure, Nicotinsäure und Glutathion bei *Avena* betrifft, deren Folge (RUGE 1947). Der Wirkstoffspiegel von Getreidesamen sinkt mit der Dauer der Lagerung.

Ziel dieser Arbeit ist die Erfassung einiger wirkstoffwechselphysiologischer und physikalischer Kennzeichen insbesondere von Samen der Nachreifeperiode, aber auch solcher des Alterungsstadiums. Samen des Licht-Dunkelkeimers *Datura Stramonium* bzw. *Datura Tatula* erweisen sich in Anbetracht ihres bereits von BÜNNING (1947, S. 355) erkannten ausgeprägten Nachreiferhythmus als geeignete Versuchsobjekte. Ihre periodischen Keimfähigkeitsänderungen werden am Anfang des experimentellen Teiles einer genauen Analyse unterworfen.

II. Nachreifeerscheinungen bei *Datura Stramonium*.

Samen von *Datura Stramonium* wurden in regelmäßigen Abständen vom 24. 7.—15. 12. 50 unmittelbar nach der Kapselreife geerntet und von Woche zu Woche während der ersten Monate des Nachreifens auf ihre Keimfähigkeit getestet. Die Keimprüfung geschah in der üblichen Weise in 5 Petrischalen auf Filtrierpapier zu je 50 Samen bei einer Temperatur im Dunkelraum von $25^0 \pm 0{,}5^0$. Besonderer Wert wurde auf genau gleichartige Versuchsbedingungen gelegt, da insbesondere die Keimgeschwindigkeit sehr stark auf äußere Faktoren anspricht. Sie hängt z. B. bei *Cichorium Endivia* unter anderem sogar von der beim Vorquellen verwendeten Gefäßgröße ab (DRAWERT 1947, S. 561).

Einstellen kleiner Uhrschälchen mit Nelkenöl in die Petrischalen konnte eventuelle Verpilzung nicht wesentlich mindern. Diese Maßnahme wurde daher aufgegeben.

Die zu verschiedenen Zeiten von Juli bis Oktober 1950 geernteten Samen erlangen erst $3^1/_2$—4 Wochen nach Reifung der Früchte eine stark variierende 50% nicht übersteigende Keimbereitschaft, um unabhängig vom Erntetermin Ende November in ihrer Keimfähigkeit stark nach-

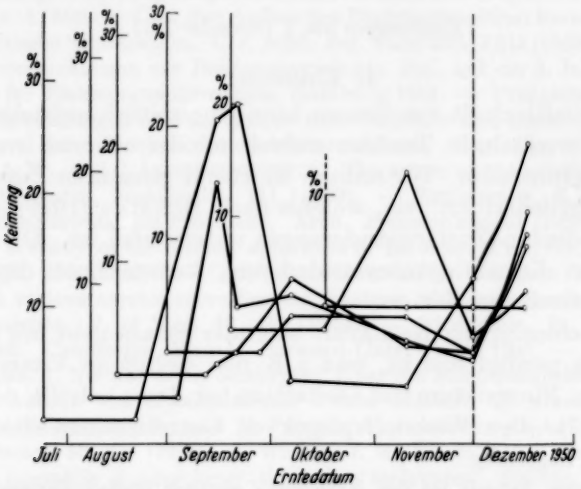


Abb. 1. *Datura Stramonium*. Die Samen wurden an verschiedenen Tagen vom 24. 7. bis 5. 11. 50 geerntet. Sie keimen nach einer Latenzzeit von etwa $3^1/_2$—4 Wochen. Die Keimfähigkeit läßt Ende November nach, um bei sämtlichen Proben im Dezember stark anzusteigen.

zulassen. Von Anfang Dezember bis Februar steigert sich die Keimfähigkeit zum Maximum von nahezu 100% (vgl. auch BÜNNING, 1947 S. 355); entsprechende im Jahre 1949 mit *Datura Tatula* durchgeführte Versuche hatten ein übereinstimmendes Ergebnis (Abb. 1).

Im Gegensatz zu dem von BÜNNING (1949, S. 172) untersuchten Verhalten von *Fragaria vesca* entspricht die erste Aktivitätsperiode der Samen von *Datura* nicht derjenigen der Mutterpflanze, denn sie ist vom Reifungstermin der Früchte abhängig. Die Samen benötigen nach Trennung von der Mutterpflanze noch einer Nachreife von bestimmter Dauer ($3^1/_2$—4 Wochen), die man wohl im Sinne einer Fertigstellung zur Erlangung der ersten Keimbereitschaft auffassen kann. Ist diese Nachreife abgeschlossen, so ordnet sich das Keimverhalten unabhängig vom Erntedatum einer Jahresrhythmik ein, die durch starke Aktivitätssteigerung im Dezember gekennzeichnet ist.

Nach dem 8. 10. geerntete Samen bleiben völlig keimunfähig.

III. Verlauf der Quellbarkeit während der Nachreife.

Kleinere Portionen frisch geernteter *Datura*-Samen wurden im Brutschrank bei 30° über gesättigter Magnesiumchloridlösung bei 32% relativer Feuchte gelagert. Zu jeder Messung wurde je etwa 1 g Samen in Aqua dest. zur Quellung gebracht. Durch Wägung der sorgfältig abgetrockneten Samen wurde in einer ersten Serie der nach 3 und in einer zweiten Serie der nach 24 Std erreichte Quellungsgrad festgestellt.

Der nach 3 Quellungsstunden eingetretene Quellungsgrad schien nach den 1950 angestellten Versuchen eine Diskontinuität im Zu-

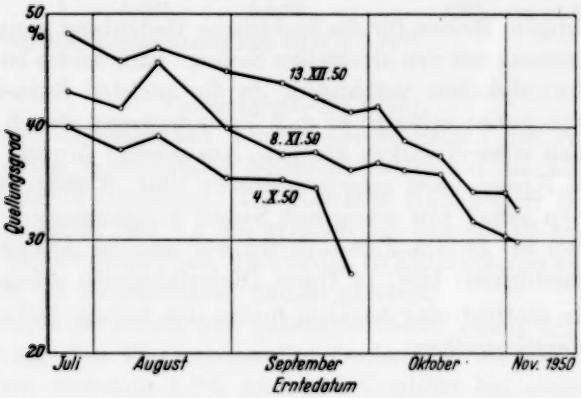


Abb. 2. Die Kurven zeigen die am 4. 10., 8. 11. bzw. 13. 12. gemessene Quellfähigkeit von *Datura Stramonium*-Samen nach 12stündiger Quelldauer in Abhängigkeit vom Erntedatum.

sammenhang mit der Erreichung der Keimfähigkeit des Samens aufzuweisen. Eine gründliche Nachprüfung mit vom 12. 9.—31. 10. 51 geerntetem *Datura*-Samen hat diesen Eindruck entkräftet. Sämtliche in der genannten Zeit geernteten und regelmäßig von 8 zu 8 Tagen bis Ende November 1951 untersuchten Samen zeigten bei 45 Einzelmessungen einen Mittelwert des auf Trockengewicht bezogenen Quellungsgrades von $31{,}3 \pm 0{,}4\%$ bei geringer Streuung der Einzelwerte um den Mittelwert. Im Gegensatz zu den im folgenden behandelten Quellungswerten nach 24stündiger Wässerung (Abb. 2) ändert sich der in 3 Std erreichte Quellungsgrad während wenigstens 14wöchiger Lagerungszeit, also auch unmittelbar nach Beendigung der Nachreife, nicht.

Sowohl die nach 3 als auch nach 24stündiger Wässerung ermittelten Quellungswerte lassen keine Beziehung zur Nachreifungs- und ersten Aktivitätsperiode erkennen. Die maximale Quellung erreicht bei gelagertem Saatgut durch längere Quelldauer nicht aber durch größere Quellgeschwindigkeit einen höheren Wert gegenüber frisch geerntetem Samenmaterial.

Der maximale Quellungsgrad nimmt während der ersten 20 Wochen Lagerungszeit von etwa 30% auf 50% zu (Abb. 2), um dann, wie Versuche aus dem Jahre 1949 lehren, mindestens 1 Jahr nahezu konstant zu bleiben.

Die Änderung des Quellungsablaufes erfolgt in einer Richtung, sie gehört also bei *Datura* zu jenen Prozessen, die wohl eine Begleiterscheinung nicht aber Ursache des Vorganges der Nachreife zu sein scheinen (vgl. BÜNNING 1949, S. 174).

IV. Keimungsbeeinflussende Wirkung von Samenextrakten.

Der bündigste Beweis für die biologische Bedeutung genuiner Stoffe ist die Austestung mit den arteigenen Samen. Eine solche ist häufig mit großen Schwierigkeiten verbunden, da die meisten Samen zu lange im Keimbett ruhen müssen, so daß Veränderungen durch Bakterien- und Pilzbefall störend wirken können. Aus diesem Grunde wird heute zumeist mit Kressesamen getestet (MÖWUS 1951, S. 263). Vorliegende Teste konnten jedoch mit arteigenen Samen vorgenommen werden, da der Pilzbefall bei *Datura Tatula* gering war und die Auswertung nach 4 (Keimschnelligkeit) bzw. 14 Tagen (Keimfähigkeit) erfolgen konnte.

Genauere methodische Angaben finden sich bei der Behandlung der einzelnen Versuchsreihen.

Versuchsreihe 1 (1949).

Als Testsamen wurden solche von *Datura Tatula* des Erntejahres 1948 verwendet, welche vom 12. 10.—11. 11. 49 eine Keimfähigkeit von 61,7 $\pm$ 2,9% und vom 12. 10. 49 bis 4. 1. 50 eine solche von 60,4 $\pm$ 2,2% aufwiesen. Die Samenextrakte wurden als wäßrige Auszüge gewonnen. Jeweils 5 g des unversehrten Samens wurden in 20 cm^3 Aqua dest. bei 27° 24 Std extrahiert. Die Extrakte waren durch Testa-Farbstoffe mehr oder weniger braun gefärbt.

Die Auszüge der zwischen dem 10. 9. und 21. 10. 49 geernteten Samen sowie die des Testsamens selbst übten keinen statistisch zu sichernden Einfluß auf die Keimfähigkeit aus. Dagegen wurde die Keimschnelligkeit merklich beeinflußt[1].

Nur Extrakte von keimfähigen, also mindestens $3^1/_2$ Wochen alten Samen hemmen die Keimschnelligkeit. Noch nicht keimfähige, nachreifende Samen üben keine deutlich nachweisbare Wirkung aus. Die hemmende Wirkung ist ungeachtet des Grades der Keimfähigkeit bei Auszügen älterer Samen stärker als bei solchen von jüngeren.

[1] Die Prüfung des Sicherheitsgrades der Differenzen erfolgte in der üblichen Weise (PÄTAU 1943, S. 161, MUDRA 1949, S. 31).

Tabelle 1. *Prozentuale Hemmung der Keimschnelligkeit durch Extrakte von Datura Tatula-Samen verschiedenen Nachreifestadiums. Testsamen Datura Tatula 1948. Versuchsdatum 21. 10. 49.*

	Erntedaten der extrahierten Samen				
	1948	10. 9. 49	28. 9. 49	14. 10. 49	17. 10. 49
Keimfähigkeit der extrahierten Samen . .	61,7 ± 2,9%	66 ± 3,0%	0	0	0
Differenz der Keimschnelligkeit zur Wasserkontrolle . .	−16,4 ± 1,9	−12,0 ± 3,4	+0,6 ± 3,8	+0,2 ± 3,6	+4,2 ± 5.0
t	8,64	3,5			
p	< 0,001	0,007	Differenz nicht gesichert		

Wasserkontrolle: Keimschnelligkeit 29,0 ± 1,62%.

Versuchsreihe 2 (1950).

Diese und die folgenden Versuchsserien suchen die Wirkung von Samenextrakten verschiedener Nachreifestadien auf die Keimfähigkeit der Testsamen zu ergründen. Die Extrakte vorliegender Serie wurden dadurch gewonnen, daß 8 g des gemahlenen Samens 24 Std in 30 cm³ Aqua dest. bei 70° verblieben. Es wurden 10 Extrakte von zwischen dem 6. 8. und 16. 10. 50 geernteten Samen getestet.

In keinem Falle konnte eine gesicherte Beeinflussung der Keimfähigkeit gegenüber den Wasserkontrollen beobachtet werden. Die Keimfähigkeit war zwischen 1,2% und 10,8% erhöht bei einem höchsten $t_{\text{Diff.}}$ [1] von 1,1, während zur statistischen Sicherung der Ergebnisse bei jeweils 5 Parallelversuchen ein t von mindestens 3,4 zu fordern wäre (Mudra 1949, S. 92).

Versuchsreihe 3 (1950).

Die Versuchsanstellung unterschied sich von der vorangehenden lediglich dadurch, daß die Samenextraktion statt bei 70° bei 30° vorgenommen wurde. Die ebenfalls fluoreszierenden Extrakte waren stärker braun gefärbt als die der vorangehenden Serie. Sämtliche extrahierten Samen befanden sich am Versuchstage (20. 10. 50) im Stadium der ersten Keimfähigkeitslatenzperiode.

Die Schätzung der Grenzwahrscheinlichkeit p bei allen folgenden Versuchsserien erfolgte unter Verwendung der Differenzmethode nach Mudra (1949). Hierbei ist allerdings zu bedenken, daß die tragbaren p-Werte höher liegen als bei Ermittlung des mittleren Fehlers der Differenz mit der üblichen Formel $m_D = \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$. Werte der Grenzwahrscheinlichkeit p bis 5% gelten noch als (schwach) gesichert. Genügende Sicherung ist bis $p = 1\%$ gewährleistet (Mudra 1949, S. 28).

Auf eine Darstellung der Einzelwerte dieser Serie wird wegen ihrer Ähnlichkeit mit derjenigen der folgenden Reihen (Tabelle 2) verzichtet.

[1] $t_{\text{Diff.}}$ = Verhältnis der Mittelwertsdifferenz zum mittleren Fehler.

Tabelle 2. *Hemmung der Keimfähigkeit von Datura Tatula-Testsamen durch Extrakte von Datura Stramonium-Samen verschiedener Nachreifestadien (8. 12. 50).*

Erntedatum	Keimfähigkeit	Differenz zur Wasserkontrolle	t	Grenzwahrscheinlichkeit p-%
1949	39,2			
6. 8. 50	10,0	$-16{,}4 \pm 2{,}2$	7,4	0,18
14. 8. 50	7,5	$-18{,}0 \pm 2{,}8$	6,4	0,31
4. 9. 50	30,0	$-11{,}2 \pm 3{,}6$	3,1	3,60
15. 9. 50	3,5	$-12{,}8 \pm 1{,}9$	6,8	0,24
2. 10. 50	1,0	$-9{,}2 \pm 2{,}3$	4,0	1,62
16. 10. 50	0,0	$-9{,}2 \pm 2{,}3$	4,0	1,62

Das Ergebnis vorliegender Versuchsserie läßt sich dahin zusammenfassen, daß sämtliche Extrakte keimungshemmenden Einfluß ausüben und demzufolge einen bei 30° nicht zerstörbaren Hemmstoff enthalten, der auf Grund der Ergebnisse der vorangehenden Versuche jedoch bei 70° zerstört wird. Die meist nur schwache bis genügende statistische Sicherung der Resultate läßt keinen differenzierten Schluß auf Beziehungen zwischen Alter, Keimfähigkeitsstufe und Extraktwirkung zu. Die Entwicklung der Keimlinge in den Extrakten ist durch Schädigungen gekennzeichnet, die insbesondere die Keimwurzel, nicht aber Hypocotyl und Cotyledonen betreffen. Die Schädigungen ähneln denjenigen, die DRAWERT (1947) bei Keimlingen von *Cichorium Endivia* festgestellt hat.

Versuchsreihen 4—6 (1950).

Von den in ihren Resultaten weitgehend übereinstimmenden Versuchsreihen 4—6 sei Serie 5 genauer besprochen. Ziel dieser Untersuchungen ist, Beziehungen zwischen Nachreifestadien, Alter oder Keimfähigkeit des Samens hinsichtlich seiner keimungsbeeinflussenden Stoffe zu finden.

Um konzentriertere Extrakte zu erlangen, wurde im Unterschied zu den bisherigen Versuchen von der doppelten Samenmenge also von 16 g ausgegangen, die in gemahlenen Portionen von je 8 g mit 20 cm^3 Wasser extrahiert wurden. Der Gesamtextrakt wurde auf 25 cm^3 eingeengt. Die fraktionierte Extraktion wirkte sich im Sinne einer Verminderung der Bakterien- und Pilztätigkeit aus.

Sämtliche Extrakte bewirken wiederum eine Verminderung der Keimfähigkeit des Testsamens. Auszüge älterer Samen hemmen stärker als solche jüngerer. Eine spezielle Beziehung der keimungshemmenden Wirkung zum Keimfähigkeitsgrad des extrahierten Samens läßt sich nicht finden.

Die letzte Versuchsreihe gilt der Frage, ob die keimungshemmenden Stoffe von *Datura stramonium* artspezifisch sind. Aus diesem Grunde

wurden statt *Datura*-Samen *Avena*-Caryopsen des Erntejahres 1949 als Testobjekte verwendet, deren Keimprozente entsprechend dem Vorgehen RUGES (1947, S. 300) durch Teilung des Endosperms stark reduziert wurden.

Tabelle 3. *Hemmung der Keimfähigkeit von Avena-Testsamen durch Extrakte von Datura Stramonium-Samen verschiedener Nachreifestadien (15. 12. 50).*

Erntedatum	Keimfähigkeit	Differenz zur Wasserkontrolle	t	Grenzwahrscheinlichkeit p-%
6. 8. 50	10,5	$-24{,}4 \pm 3{,}3$	7,6	$< 0{,}10$
14. 8. 50	12,5	$-23{,}2 \pm 3{,}5$	6,8	0,11
4. 9. 50	43,5	$-22{,}0 \pm 2{,}6$	8,4	$< 0{,}10$
15. 9. 50	5,5	$-22{,}8 \pm 3{,}0$	7,6	$< 0{,}10$
2. 10. 50	2,0	$-21{,}6 \pm 3{,}5$	6,1	0,19
16. 10. 50	0,0	$-22{,}8 \pm 4{,}0$	5,8	0,21

Wasserkontrolle: Keimfähigkeit 29,6%.

Die in Tabelle 3 dargestellten Versuche zeigen eine erhebliche, durch die Extrakte bewirkte Verminderung der Keimfähigkeit des Testsamens. Sie beweisen die Unspezifität des Hemmstoffes und lassen wiederum die stärkere Wirksamkeit der Extrakte älterer Samen erkennen.

Die Ergebnisse der Versuche dieses Abschnittes zeigen, daß Extrakte von ganz frischen Samen, die noch vor der ersten Keimungsphase stehen, schwach oder völlig unwirksam sind. Sobald der Same einmal keimfähig geworden ist, wirken seine Extrakte auf arteigene und andersartige Testobjekte keimungshemmend. Eine Veränderung des Gehalts an keimungshemmenden Stoffen mit deutlicher Beziehung zur Nachreifungsrhythmik ist nicht wahrnehmbar. Die Wirkung verstärkt sich mit zunehmendem Alter des Samens bis zu einem Optimum bei Erreichen der höchsten Keimfähigkeit. Starke Extraktwirkung und gute Keimfähigkeit bleiben mindestens 1 Jahr erhalten. Die Toxizität der Extrakte äußert sich nicht nur in erhöhter Keimungshemmwirkung, sondern auch in einer Schädigung des Keimlings. Diese bei *Datura* festgestellten Erscheinungen stehen im Gegensatz zu den Befunden an *Sorbus aucuparia* und *Berberis Thunbergii*, deren Extrakte während der Nachreife an Toxizität abnehmen (BARTON und SOLT 1949).

Während bei den bisher besprochenen Fällen nur Hemmstoffe in Erscheinung treten, läßt sich an bestimmten Keimlingsorganen von *Helianthus* (Plumula, Keimblätter, Hypocotylglied) ein Keimungshormon isolieren, welches die Keimgeschwindigkeit von *Avena* steigert. Extrakte von schnellkeimendem Saatgut zeigen die größte Wirksamkeit (RUGE 1947, S. 299).

Manche Samen, *Fraxinus*knospen und Kartoffelknollen (HEMBERG 1949) haben beim Übergang zu höherer Aktivität offenbar die Möglichkeit eines Abbaues von Hemmstoffen. Im Gegensatz hierzu können die entsprechenden Verhältnisse bei *Datura* mit einer verstärkten Ausscheidungsfähigkeit von Hemmstoffen bei Erreichung höherer Keimfähigkeit gedeutet werden. Vielleicht handelt es sich auch lediglich um Störstoffe (BORISS 1940). Die qualitative und quantitative Veränderung solcher Wirkstoffe kann jedenfalls nicht als Ursache, sondern muß vielmehr als Folge oder Begleiterscheinung eines endogen verursachten Aktivitätswechsels angesehen werden.

V. Blausäurenachweis.

Blausäure hat sich als der oder einer der keimungshemmenden Stoffe aller Samen erwiesen, die Blausäure enthalten (KEIL 1939). Infolge ihres weit verbreiteten genuinen Vorkommens in Samen wurden auch *Datura*-Samen, und zwar solche der verschiedensten Reife-, Nachreife- und Alterungsstadien auf HCN geprüft. Es diente dazu die Testfleckenmethode von SEIFFERT[1], welche eine quantitative Bestimmung freier HCN bis hinab zu $^1/_4\ \gamma$ gestattet.

Das Ergebnis war bei allen Versuchen ein völlig negatives. *Datura*-Samen enthalten weder im unreifen noch im reifen, nachgereiften oder gealterten Zustand meßbare Mengen freier bzw. hydrolytisch abspaltbarer Blausäure.

VI. Das Verhalten des Redoxpotentials während der Nachreife.

Der Organismus ist in seiner Entwicklungs- und Lebenstätigkeit an bestimmte Oxydo-Reduktionsbereiche gebunden. Das Vorhandensein optimaler Lebensbedingungen von Protisten zeigt z. B. eine strenge Abhängigkeit vom Oxydations-Reduktionspotential des Außenmediums (EFIMOFF u. a. 1928). Man kann ebenso von einem Redoxzustand des Binnenmediums sprechen, insofern verschiedene oder sogar histologisch übereinstimmende pflanzliche Gewebe durch charakteristische Redoxpotentiale ausgezeichnet sind (VAN FLEET 1948).

Die r_H-Werte zeigen verschiedene, wahrscheinlich eng mit dissimilatorischen Prozessen verknüpfte physiologische Zustände an. Der Aktivitätsgrad von Hühnereizellen- und Embryonen spiegelt sich im Redoxzustand wider. Die Reihe der Beispiele enger Abhängigkeit des Oxydationszustandes von physiologischen und pathologischen Lebenserscheinungen in Geweben und Organismen ließe sich erweitern. Auch der Aktivitätszustand von Samen muß sich in seiner funktionellen Abhängigkeit vom Dissimilationsgeschehen im Redoxpotential spiegeln.

[1] Durch freundliche Mitteilung von Herrn Dr. Dr. SEIFFERT, Heidelberg.

Inwiefern allerdings das Redoxpotential Ursache oder Begleiterscheinung endogener Aktivitätsänderungen ist, kann zunächst nicht entschieden werden.

RUGE (1947, S. 305) fand, daß halbierte, wirkstoffarme und gealterte Haferkörner durch den Redoxkatalysator Glutathion eine erhebliche Keimfähigkeitsförderung erfahren. Er untersuchte daraufhin das Redoxpotential gealterten und frischen Getreidesaatgutes mit dem Ergebnis, daß frisches vollkeimfähiges Saatgut eine höhere Oxydationswirkung hat als alte schlechtkeimende Getreidesamen.

Im Anschluß an die Untersuchungen RUGES wurden im Rahmen vorliegender Arbeit ebenfalls Redoxpotentialmessungen an gealtertem und frischem Saatgut unter besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse bei *Datura Tatula* durchgeführt. Die Bereitung der Samenextrakte erfolgte nach der von RUGE (1947, S. 306) angegebenen Methode. Die Potentialmessung wurde jedoch nicht mit Redoxindikatoren sondern elektrometrisch ausgeführt. Während als Meßelektrode eine solche aus Platin verwendet wurde, diente die gesättigte Kalomelelektrode als Vergleich. Meßgerät war der Schleifdrahtkompensator „Pehawi" von Hartmann & Braun. Der r_H-Wert wurde mit den Meßergebnissen des Potentials und des p_H einem Nomogramm nach KORDATZKI entnommen.

Jeder Samenextrakt wurde in 2 Meßreihen zu je 7 Einzelmessungen getestet. Bei der ersten Serie war das Mahlgut der Samen lediglich in H_2O dest. aufgeschwemmt, während es bei der zweiten mit KH_2PO_4 gepuffert wurde. In jedem Falle wurde eine gründliche Verdrängung des Sauerstoffs durch sauerstofffreien Stickstoff herbeigeführt. Fehlerrechnungen erübrigten sich, da die Millivolt-Werte der Einzelmessungen mit nur ganz wenigen Ausnahmen bis auf Bruchteile von 1 mV übereinstimmten.

Während die Meßwerte der meisten Getreidesamen längere Zeit konstant blieben, erfolgte bei *Papaver somniferum* und *Datura Tatula* vielfach schon nach 10minütiger Konstanz ein starker Potentialabfall. Diese Erscheinung läßt sich vielleicht der Ansicht WARTENBERGS (1939) entsprechend durch das reduktorische Eingreifen eines Melaninsystems erklären.

Den Versuchen an *Datura Tatula* seien einige Messungen an alten und frischen Kulturpflanzensamen vorangestellt.

In Übereinstimmung mit den an Hafer gewonnenen Ergebnissen RUGES (1947, S. 306) vermindert sich das Redoxpotential sämtlicher von uns untersuchten Kulturpflanzen im Laufe der Lagerungszeit. RUGE findet dafür eine Erklärung in der Annahme, daß das Atmungsmaterial durch die ständige Atmung während der Lagerung in eine höhere Oxydationsstufe überführt wird, seine Reduktionswirkung dabei erhöhend bzw. seine Oxydationskraft verringernd. Für die Höhe des

Tabelle 4. *Redoxpotential von in Aqua dest. aufgeschwemmtem Mahlgut von frischem bzw. 1- oder 2jährigem Samen.*

Saatgut	Erntejahr		
	1948	1949	1950
Hafer . . .		21,5	22,5
Roggen . .		22,8	24,3
Mais. . . .		22,7	24,2
Gerste . .		21,9	22,9
Weizen . .		23,5	25,0
Mohn . . .	22,3		25,0
Bohnen . .		22,7	23,7
Datura Tatula	23,5	22,5	23,1*

Tabelle 5. *Redoxpotential von in KH_2PO_4 gepufferter Aufschwemmung von Mahlgut frischen bzw. 1- oder 2jährigen Samens.*

Saatgut	Erntejahr		
	1948	1949	1950
Hafer . . .		21,2	22,3
Roggen . .		22,5	24,0
Mais. . . .		23,0	24,0
Gerste . .		22,2	23,1
Weizen . .		23,7	24,9
Mohn . . .	22,5		25,0
Bohnen . .		22,9	23,5
Datura Tatula	23,5	22,2	23,2*

* *5 Wochen nach der Ernte.*

r_H dürfte es von ausschlaggebender Bedeutung sein, wie schnell und inwieweit der durch Dehydrierung befreite Wasserstoff dem Luftsauerstoff als Acceptor aufgeladen werden kann. Befindet sich das Cytochromoxydasesystem in hochaktivem Zustand, was bei frischem stärker wasserhaltigem Samen zu erwarten ist, so kann sich nur eine geringe Wasserstofftension entwickeln. Dieser Zustand kennzeichnet offenbar das Redoxverhalten der von uns untersuchten jungen Nutzpflanzensamen, während geringe Aktivität der Cytochromoxydase bei alten Samen zu höherer Reduktionskraft bei geringerem r_H führen könnte.

Bei *Datura Tatula* sind die Verhältnisse nicht so klar. Das 1950 5 Wochen nach der Ernte untersuchte Material zeigt hinsichtlich seines r_H weitgehende Übereinstimmung mit demjenigen von 1948, während das der 1jährigen Samen (1949) geringere r_H-Werte aufweist. Zu bemerken ist, daß sich das verschieden alte Samenmaterial in seiner Keimfähigkeit nicht wesentlich voneinander unterscheidet.

Eine Analyse der Oxydo-Reduktionsverhältnisse während einer 60tägigen Nachreifeperiode ist in Tabelle 6 wiedergegeben.

Die unmittelbar nach der Ernte ermittelten r_H-Werte von *Datura Tatula* liegen relativ hoch (Tabelle 6). Sie sinken während der ersten

Tabelle 6. *Redoxpotential von Datura Tatula-Samen während 60tägiger Nachreifezeit.*

Alter	Erntedaten						
Tage	9. 8.	4. 9.	11. 9.	19. 9.	26. 9.	3. 10.	11. 10. 50
1	—	—		22,9	22,8	22,8	22,9
7	—	—	22,2	22,2	22,2	22,2	—
14	—	—	22,9	22,9	22,9	—	—
21	—	—	22,9	22,9	—	—	—
30	—	23,1	23,2	—	—	—	—
60	23,5	—	—	—	—	—	—

7 Tage, um darnach wieder schnell anzusteigen und ihren Wert über lange Zeit ziemlich konstant zu halten. Die absoluten Werte des r_H sind lediglich vom Alter des Samens, nicht vom Erntedatum abhängig. Ob eine enge Verknüpfung des Redoxverhaltens mit den Keimungsperioden während der Nachreife besteht, müssen eingehendere Untersuchungen erweisen.

Zusammenfassung.

1. Reife Samen von *Datura Stramonium* bedürfen nach Trennung von der Mutterpflanze einer eigentlichen Nachreifezeit von $3^1/_2$ bis 4 Wochen. Ist die Nachreife abgeschlossen, so ordnet sich das Keimverhalten unabhängig vom Erntedatum einer Jahresrhythmik ein, die durch starke Aktivitätssteigerung im Dezember gekennzeichnet ist.

2. Der Quellungsgrad von *Datura Stramonium*-Samen nach 24-stündiger Quellungsdauer nimmt während der ersten 20 Wochen Lagerungszeit von etwa 25 auf 50% zu, um darnach mindestens 1 Jahr nahezu konstant zu bleiben. Es läßt sich keine Beziehung zu den Nachreifeperioden erkennen.

3. Nur Extrakte von mindestens $3^1/_2$ Wochen alten *Datura*-Samen verringern die Keimschnelligkeit. Die Extrakte älterer Samen sind wirksamer als die von jüngeren.

Bei 30° gewonnene Extrakte von *Datura Stramonium*-Samen setzen die Keimfähigkeit von *Datura Tatula*-Testsamen herab, sobald die extrahierten Samen die erste $3^1/_2$—4wöchige Nachreife überwunden haben. Die Wirksamkeit verstärkt sich mit zunehmendem Alter des extrahierten Samens bis zu einem Optimum bei Erreichen der höchsten Keimfähigkeit. Starke Extraktwirkung und gute Keimfähigkeit bleiben mindestens 1 Jahr erhalten.

Der Hemmstoff von *Datura* ist nicht gattungsspezifisch. Er ist bei 70° zerstörbar.

Es wird angenommen, daß *Datura*-Samen bei Erreichen höherer Keimfähigkeit in der Lage sind, Keimungshemmstoffe in verstärktem Maße auszuscheiden.

4. Der Keimungshemmstoff von *Datura* ist nicht Blausäure.

5. Das Redoxpotential einiger Nutzpflanzensamen wurde untersucht. Es vermindert sich im Laufe der Lagerungszeit.

Das Redoxpotential von *Datura Tatula*-Samen sinkt unmittelbar nach der Ernte ab, um bereits nach 14 Tagen wieder anzusteigen und für längere Zeit ungefähr konstant zu bleiben.

Ein Teil der Untersuchungen wurde von Fräulein cand. rer. nat. Elisabeth Müller und cand. rer. nat. Annemarie Ressig durchgeführt.

Literatur.

BARTON, L. V., and M. L. SOLT: Contr. Boyce Thompson Inst. **15**, 259 (1948). Zit. nach BÜNNING 1949. — BORRISS, H.: Über die inneren Vorgänge bei der Samenkeimung und ihre Beeinflussung durch Außenfaktoren. Jb. Bot. **89**, 254 (1940). — BÜNNING, E.: Die endogene Ruheperiode der Samen. Planta (Berl.) **35**, 352 (1947). Zur Physiologie der endogenen Jahresrhythmik in Pflanzen, speziell Samen. Z. Naturforschg **4b**, 167 (1949). — DRAWERT, H.: Beiträge zur Stimulation des Pflanzenwachstums. I. Der Einfluß von Extrakten von Folia *Digitalis* auf die Keimung der Früchte von *Cichorium Endivia* L. Planta (Berl.) **35**, 555 (1947). — EFIMOFF, W. W., N. J. NEKRASSOW u. A. W. EFIMOFF: Die Einwirkung des Oxydationspotentials und der H-Ionenkonzentration auf die Vermehrung der Protozoen und Abwechslung ihrer Arten. Biochem. Z. **197**, 105 (1928). — FLEET, P. S. VAN: Cortical patterns and gradients in vascular plants. Amer. J. Bot. **35**, 219 (1948). — HEMBERG, T.: Physiol. Plantarum **2**, 37 (1949). Zit. nach BÜNNING 1949. — KEIL, J.: Die Bedeutung der Blausäure bei der Samenkeimung. Jb. Bot. **88**, 345 (1939). — MOEWUS, F., L. MOEWUS u. E. SCHRADER: Blastokoline in fleischigen Früchten. Z. Naturforschg **6b**, 261 (1951). — MUDRA, A.: Anleitung zur Durchführung und Auswertung von Feldversuchen nach neueren Methoden. Leipzig 1949. — PÄTAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Meßreihen. Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — RUGE, U.: Untersuchungen über keimungsfördernde Wirkstoffe. Planta (Berl.) **35**, 297 (1947).

Privatdozent Dr. K. HÖHN, Mainz, Saarstr. 21, Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 40, S. 419—430 (1952).

Aus dem Staatsinstitut für Allgemeine Botanik zu Hamburg.

ÜBER DEN INAKTIVEN WUCHSSTOFF DER HAFERKOLEOPTILE.

Von

EDITH RAADTS.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 3. Dezember 1951.)

Einleitung.

Nach den Untersuchungen von POHL (1936) konnte das Wachstum der Koleoptilen von Gramineen, welches vom Endospermwuchsstoff abhängig ist, bei wuchsstofffreien Körnern durch Zugabe von Auxin zu denselben, nicht aber durch Heteroauxin angeregt werden. Wie VOSS (1939) und FUNKE (1943) annehmen, wird das Auxin des Maisendosperms im Skutellum inaktiviert und wandert in die Koleoptilspitze, wo es wieder als aktive Form auftritt. FUNKE und SÖDING (1948) halten den inaktiven in der Gramineenkoleoptile aufsteigenden Wuchsstoff ebenfalls für ein Derivat des Auxins und bezeichnen ihn wegen seiner gegensätzlichen Wirkung auf das Wachstum als Antiauxin. Ein aus Kartoffelstücken gewonnener Stoff, der sich als identisch mit dem inaktiven Haferwuchsstoff erwies, schien langsamer durch Filtrierpapier zu diffundieren als Auxin. FUNKE und SÖDING schlossen daher auf ein größeres Molekulargewicht und vermuteten, daß es sich um eine gebundene Form des Auxins handelt.

AVERY, BERGER und SHALUCHA (1941) konnten durch Kochen mit Alkali aus Maiskörnern einen Wuchsstoff gewinnen, den sie wegen seiner Säureempfindlichkeit und Laugenfestigkeit als β-Indolessigsäure ansahen. Diese Vermutung wird bestätigt durch HAAGEN-SMIT, LEECH und BERGEN (1942) sowie durch BERGER und AVERY (1944). Aus einer Vorstufe im Samen wurde durch alkalische Hydrolyse ein Wuchsstoff, der mit β-Indolessigsäure identisch war, abgespalten. VON GUTTENBERG und LEHLE-JÖRGES (1948) gewannen aus verschiedenen Samen durch Extraktion mit Wasser oder Äther neben einem säurefesten auch einen laugenfesten Wuchsstoff, den diese Autoren ebenfalls für Heteroauxin halten. Der in der Gramineenkoleoptile hochsteigende Stoff ist nach VON GUTTENBERG (1948) eine inaktive Form des Heteroauxins, wahrscheinlich β-Indolacetaldehyd. In der Koleoptilspitze soll dieser die Bildung von Auxin anregen.

Zur Entscheidung der Frage, ob es sich bei dem aufsteigenden Wuchsstoff um eine inaktive Form des Auxins a oder β-Indolessigsäure handelt,

prüfte ich sein Verhalten gegen verschiedene Reagenzien und bestimmte das Molekulargewicht.

Methodik.

Die Versuche wurden mit Svalöfs Siegeshafer durchgeführt. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Sägemehl bei 20° C im Dunkeln, nur am Tage vor dem Versuch wurden sie 1 Std dem Tageslicht ausgesetzt, um das Wachsen des Mesokotyls zu unterdrücken. Während des Testes wurde Orangelicht benutzt, das phototropisch verhältnismäßig unwirksam ist. Den aufsteigenden inaktiven Wuchsstoff gewann ich durch Diffusion aus Koleoptilstümpfen in Agarwürfel von etwa 9 mm^3 Inhalt. Nach 1stündiger Abfangdauer wurden die wuchsstoffhaltigen Würfel 3mal je 1 Std in Aqua bidest. ausgewaschen, und zwar 200 Würfel in jeweils 20 cm^3 Wasser. Dieses wurde auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand mit 20 Tropfen Aqua bidest. aufgenommen und in verschiedenen Konzentrationen auf neue Agarwürfel geträufelt. Zur Prüfung auf Säure- und Laugenfestigkeit nahm ich den Rückstand mit 1 *n* HCl oder 1 *n* NaOH auf und kochte 3 Std am Rückflußkühler.

Zum Nachweis des Wuchsstoffes benutzte ich den Zylindertest (FUNKE und SÖDING 1948), aus $1^1/_2$—2 cm langen Koleoptilen wurden 1 cm lange Zylinder herausgeschnitten und auf Glasnadeln gesteckt, die in Paraffinblöckchen befestigt waren. Mit der basalen Schnittfläche standen die Zylinder auf Filtrierpapier, welches mit einer schwach konzentrierten Nährlösung angefeuchtet war. [2 g $Ca(NO_3)_2$, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g KNO_3, 0,5 g $MgSO_4$, 0,25 g KCL, 0,005 g $FeCl_3$, 1 g Glukose auf 6000 cm^3 Wasser].

Eine Zone von etwa $^1/_2$ cm wurde markiert und die Zuwachswerte mit dem Horizontalmikroskop gemessen, wobei ein Teilstrich 0,077 mm entspricht. Alle Werte sind Mittelwerte aus 10—20 Testpflanzen.

Molekularbestimmung des inaktiven Wuchsstoffes.

WENT (1928) bestimmte zuerst das Molekulargewicht von Wuchsstoff aus Haferkoleoptilspitzen durch Diffusion in Agar. Dieselbe Methode benutzten seitdem noch mehrere Autoren. Mit Hilfe des experimentell erhaltenen Diffusionskoeffizienten ermittelten sie das näherungsweise Molekulargewicht von Wuchsstoff aus verschiedenen Pflanzen und Pflanzenteilen. Da der Unterschied zwischen Auxin und β-Indolessigsäure groß ist, konnte die Identität der geprüften Substanzen mit einem der beiden Wuchsstoffe leicht festgestellt werden. β-Indolacetaldehyd, der ebenfalls in Pflanzen vorkommt (LARSEN 1944, HEMBERG 1947) und ein ähnliches Molekulargewicht wie die Säure hat, kann durch seine neutrale Natur sowie durch seine Wirkungskurve (LARSEN 1944 und 1949) leicht unterschieden werden. LARSEN (1944, S. 106) und KRAMER und WENT (1949, S. 219) geben eine Übersicht über die mit dieser Methode bis dahin gefundenen Molekulargewichte der verschiedenen Pflanzenwuchsstoffe.

Zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten nach WENT werden vier Agarscheiben von gleicher Höhe übereinander gelegt. Die oberste Scheibe enthält Wuchsstoff in einer bestimmten Konzentration, den man eine gewisse Zeit bei bestimmter Temperatur diffundieren läßt. Darauf wird

die Wuchsstoffkonzentration jeder einzelnen Agarscheibe in Hafertest geprüft. Nach KAWALKIS Tabelle besteht eine Beziehung zwischen dem prozentualen Wuchsstoffgehalt der einzelnen Scheibe und einem relativen Wert x, der also aus der Tabelle abgelesen werden kann. Nun ist $x = \frac{h_2}{4kt}$, wobei h die Höhe der Agarscheibe in Zentimetern, t die Zeit in Tagen und k den Diffusionskoeffizienten bezeichnet. Da h und t ebenfalls bekannte Werte sind, kann k berechnet werden.

Da die Kurven nach KAWALKIS Tabelle für die einzelnen Agarscheiben verschieden steil verlaufen, sind die abgelesenen x-Werte in verschiedenem Maße gesichert. Die Kurve für die zweite Agarscheibe zeigt einen besonders flachen Anstieg und läuft bei höherem Wuchsstoffgehalt annähernd parallel zur Abszisse. Um die dadurch entstehenden Ungenauigkeiten auszugleichen, wird den Werten der einzelnen Agarscheiben verschiedenes Gewicht beigelegt. Jeder abgelesene x-Wert wird multipliziert mit einem Wert p, welcher die Steilheit des Anstiegs oder Abfalls der Kurve angibt. Die Produkte werden addiert und durch die Summe der p-Werte dividiert. Man erhält dann den korrigierten Durchschnittswert für x.

Mit dem Diffusionskoeffizienten läßt sich nach der Formel von ÖHOLM $k\sqrt{M} = C$ das Molekulargewicht bestimmen. C ist eine Konstante, die für undissoziierte Stoffe bei 20° 7 beträgt, bei dissoziierten Stoffen aber je nach der Dissoziation einen etwas höheren Wert hat.

Diffusionsmethode. Für die Diffusion verwendete ich teils 1,5%igen, teils 3%igen Agar. Die Scheibendicke betrug 0,92 mm oder 1,5 mm, die Diffusionszeit 1 Std bzw. $1^1/_2$ Std. Ich ging von 3facher, später sogar von 6facher Wuchsstoffkonzentration (d. h. in 1 Agar*würfel* war die aus 3 bzw. 6 Pflanzen gewonnene Menge vereinigt) aus, die ich diffundieren ließ. Bei Benutzung von 6facher Konzentration wurde der Wuchsstoff der beiden obersten Scheiben vor dem Test auf die Hälfte verdünnt, um ihn möglichst quantitativ nach der Wirkungskurve bestimmen zu können. In allen Fällen zeigte nämlich die Wirkungskurve oberhalb einfacher Konzentration (Abb. 1) einen flacheren Anstieg, so daß die genauesten Werte, trotz geringer Größe, unterhalb dieses Wuchsstoffgehaltes abgelesen werden konnten. Während der Diffusion befanden sich die Agarscheiben in einem mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleideten Schälchen. Nachdem die Scheiben getrennt worden waren, wurden sie in 2,5×2,5 mm große Würfel geschnitten und diese getestet.

Testmethode zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten. Bei allen bisher bestimmten Diffusionskoeffizienten handelte es sich um aktive Wuchsstoffe, deren Konzentration im Hafertest nahezu quantitativ zu ermitteln war. Für die Bestimmung des inaktiven Wuchsstoffes konnte nicht der übliche Krümmungstest angewendet werden, sondern nur der

weniger genaue Zylindertest. Die Testzeit für den inaktiven Wuchsstoff betrug bei 8 Std vorher isolierten Zylindern 15 Std, für Kontrollversuche mit aktiven Wuchsstoffen $2^1/_2$ oder 5 Std. Da der Zuwachs der Koleoptilzylinder nicht an jedem Tag gleich war, wurde zu jedem Versuch die Wirkungskurve bestimmt. Ich prüfte den Zuwachs, den $^1/_4$-, $^1/_2$-, 1-, $1^1/_2$- und 2fache Konzentration des Wuchsstoffes gegenüber der Kontrolle hervorrief, wobei ich die aus einem Keimling abgefangene Wuchsstoffmenge, in einem Agarwürfel vereinigt, als einfache Konzentration annahm (Abb. 1).

Bestimmung des Diffusionskoeffizienten. Um die Brauchbarkeit des Zylindertestes zu prüfen, bestimmte ich zunächst mit dieser Methode den Diffusionskoeffizienten von synthetischer β-Indolessigsäure sowie von Wuchsstoff aus Koleoptilspitzen, den ich in derselben Weise in Agarwürfeln abfing, auswusch und wieder auf Agarwürfel träufelte wie den inaktiven Wuchsstoff. Für β-Indolessigsäure errechnete ich in zwei Versuchen die Werte 0,632 und 0,627, für den aktiven Haferwuchsstoff 0,427 und 0,422.

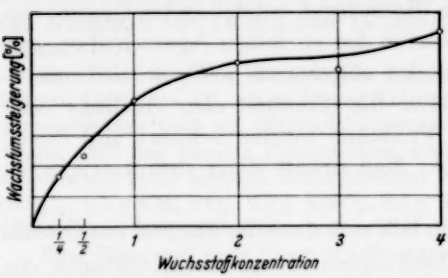


Abb. 1. Wirkungskurve von inaktivem Wuchsstoff aus Hafer. Abszisse: 1 = die aus einer Pflanze abgefangene Wuchsstoffmenge. Ordinate: 1 Teilstrich = 10% Wachstumssteigerung über die Kontrolle.

Drei Versuche mit inaktivem Wuchsstoff ergaben einen Diffusionskoeffizienten, der dem der β-Indolessigsäure annähernd gleich war (Tabelle 1). Eine Reihe von Versuchen aus dem Februar 1951 zeigte stärkere Schwankungen, sowie in einigen Fällen ganz abweichende Werte, so daß aus dem Einzelversuch keine genaue Berechnung möglich war (Tabelle 2).

Der Durchschnittswert der 5 Bestimmungen ergab aber wieder, in Übereinstimmung mit den Einzelversuchen der Tabelle 1, einen Diffusionskoeffizienten, welcher dem der β-Indolessigsäure annähernd entsprach.

Bestimmung des Molekulargewichtes. Nach der Formel von ÖHOLM zur Bestimmung des Molekulargewichtes mittels des Diffusionskoeffizienten ist bei dissoziierten Stoffen die Konstante größer als 7. LARSEN (1944) berechnete sie für β-Indolessigsäure auf 7,82. Für Auxin soll derselbe Wert gelten. Der für meine Diffusionsversuche verwendete Agar war in Leitungswasser von p_H 6 gewässert. Ich nahm daher an, daß die sauren Wuchsstoffe der Kontrollversuche in dissoziierter Form vorlagen und benutzte diese Konstante für beide Stoffe. Für β-Indolessigsäure ließ

sich daraus ein Molekulargewicht von 153 bzw. 156 und für den Haferspitzenwuchsstoff ein Molekulargewicht von 336 bzw. 344 errechnen. Das tatsächliche Molekulargewicht für Heteroauxin beträgt 175; für Auxin a ergibt sich nach der Formel von KÖGL 328.

Der inaktive Wuchsstoff lag dagegen in neutraler Form vor (vgl. S. 7). Zur Bestimmung seines Molekulargewichtes benutzte ich deshalb

Tabelle 1. *Bestimmung des Diffusionskoeffizienten und des Molekulargewichtes von inaktiven Wuchsstoffen.*
Diffusion durch 3%igen Agar, Diffusionszeit 1 Std.

Agarscheibe	Absolute Verteilung des Wuchsstoffes %	Relative Verteilung des Wuchsstoffes %	$\frac{h^2}{4\,kt}$	p	$\frac{h^2}{4\,kt} \cdot p$	$x = \frac{\Sigma \frac{h^2}{4\,kt} \cdot p}{\Sigma p}$	$k = \frac{h^2}{x \cdot 4\,t}$	Molekulargewicht
I	50	49,5	0,2600	0,6	0,1560	$x = \frac{0,4145}{1,9}$	$k = \frac{0,014^2 \cdot 24}{0,218 \cdot 4}$	$\sqrt{M} = \frac{7}{0,540}$
II	30	29,8	0,1280	0,4	0,0512	$= 0,218$	$= \frac{0,4704}{0,872}$	$M = 168$
III	14	13,8	0,2680	0,4	0,1048		$= 0,540$	
IV	7	6,9	0,2050	0,5	0,1025			
	101	100,0	0,8550	1,9	0,4145			
I	36	50,8	0,2830	0,6	0,1658	$x = \frac{0,4188}{1,9}$	$k = \frac{0,015^2 \cdot 24}{0,220 \cdot 4}$	$\sqrt{M} = \frac{7}{0,614}$
II	21	29,6	0,1220	0,5	0,0610	$= 0,220$	$= \frac{0,5400}{0,880}$	$M = 131$
III	10	14,1	0,2530	0,4	0,1000		$= 0,614$	
IV	4	5,5	0,2300	0,4	0,0920			
	71	100,0	0,8860	1,9	0,4188			
I	50	49,0	0,2550	0,6	0,1530	$x = \frac{0,3760}{1,6}$	$k = \frac{0,015^2 \cdot 24}{0,235 \cdot 4}$	$\sqrt{M} = \frac{7}{0,575}$
II	32	31,4	0,1800	0,2	0,0360	$= 0,235$	$= \frac{0,5400}{0,940}$	$M = 149$
III	18	17,7	0,1710	0,5	0,0850		$= 0,575$	
IV	2	1,9	0,3400	0,3	0,1020			
	102	100,0	0,9460	1,6	0,3760			

die Konstante 7 und errechnete aus dem Diffusionskoeffizienten des Durchschnittsversuches 0,522 ein Molekulargewicht von 180 und aus den Diffusionskoeffizienten der 3 Einzelversuche 0,540, 0,614 und 0,575 die Molekulargewichte 168, 131 und 149. Der Durchschnittswert aus den 5 Versuchen ist wohl der sicherste. Der x-Wert der 1. und 4. Agarscheibe ist auf dem am steilsten ansteigenden Teil der Kurven nach KAWALKIS Tabelle abgelesen, während bei den 3 Einzelversuchen wegen der größeren Schichthöhe der Agarscheiben die Verteilung des Wuchsstoffes nicht so günstig war und alle x-Werte auf flacher ansteigenden Kurventeilen lagen (vgl. p-Werte in Tabelle 1 und 2).

Tabelle 2. *Bestimmung des Diffusionskoeffizienten und des Molekulargewichtes von inaktivem Wuchsstoff aus dem Durchschnittswert von 5 Versuchen.*

Diffusion durch 1,5%igen Agar, Scheibenhöhe 0,92 mm, Diffusionsdauer 1 Std.

Agar-scheibe	12. 2. 51 %	23. 2. 51 %	6. 3. 51 %	9. 3. 51 %	14. 3. 51 %	Absolute Durchschnittswerte %	Relative Durchschnittswerte %	$\frac{h^2}{4kt}$	p	$\frac{h^2}{4kt} \cdot p$	$x = \frac{\Sigma \frac{h^2}{4kt} \cdot p}{\Sigma p}$	$k = \frac{h^2}{x \cdot 4t}$	Molekulargewicht
I	28,0	31,0	44,2	(71,0)	44,0	36,8	36,2	0,120	1,2	0,144	$x = \frac{0,352}{3,6}$	$k = \frac{0,0092^2 \cdot 24}{0,0975 \cdot 4}$	$\sqrt[7]{M} = \frac{7}{0,522}$
II	26,0	20,0	26,0	32,0	(61,0)	26,0	25,5	0,048	0,5	0,024			
III	7,0	18,2	30,0	31,0	23,5	21,9	21,5	0,095	0,6	0,057	$= 0,0975$	$= \frac{0,02020}{0,388}$	$M = 180$
IV	8,0	17,5	21,0	16,0	23,0	17,1	16,8	0,098	1,3	0,127			
						101,8	100,0	0,361	3,6	0,352		$= 0,522$	

Im Gegensatz zu den Versuchen mit aktivem Wuchsstoff hatten diejenigen mit dem inaktiven Stoff einen zu kleinen x-Wert für den 2. Agarblock. KRAMER und WENT (1949) beobachteten dieselbe Erscheinung bei Diffusion von Wuchsstoff aus Tomatenstengelspitzen. Nach ihrer Deutung kommt die Abweichung durch ein Gemisch von 2 verschieden schnell diffundierenden Stoffen zustande, welches sowohl aus 2 Wuchsstoffen als auch aus einem Wuchsstoff und einem leichteren Hemmstoff bestehen kann.

Ich wählte mehrere Beispiele, in denen ich 2 Wuchsstoffe von verschiedenem Molekulargewicht in unterschiedlichen Mengenverhältnissen annahm und aus der prozentualen Verteilung der Einzelstoffe diejenige der Gesamtwuchsstoffmenge in jeder Agarscheibe berechnete. Die zugehörigen x-Werte ergaben keine nennenswerte Abweichung voneinander. Es ist daher unwahrscheinlich, daß der aufsteigende Wirkstoffstrom der Koleoptile noch einen 2. Wuchsstoff enthält. Ein Wuchsstoff-Hemmstoffgemisch dagegen, bei dem ich allerdings die Hemmwirkung nur schätzen konnte, ergab die prozentuale Verteilung einer Wachstumswirkung, deren x-Werte verschieden waren und in ihrer Abweichung voneinander in den einzelnen Agarscheiben den Werten in meinen Versuchen glichen. Bei Anwesenheit eines Hemmstoffes, der schneller als der Wuchsstoff wandert, enthält die oberste Agarscheibe verhältnismäßig zu viel Wuchsstoff, während die unteren Scheiben mehr Hemmstoff enthalten als dem normalen Gemisch entspricht. Dadurch

ist der x-Wert für die oberste Scheibe zu groß. Die x-Werte der 3. und 4. Scheibe sind, da sie auf den absteigenden Kurven der KAWALKIschen Tafel abgelesen werden, ebenfalls etwas zu groß. Wie meine Versuche zeigen (Tabelle 3), hat auch schon die 2. Scheibe anscheinend zu wenig Wuchsstoff, das ist wohl verhältnismäßig zu viel Hemmstoff. Das wirkt auf eine Verkleinerung des x-Wertes dieser Scheibe hin (s. Tabelle 1 und 2). Tabelle 3 gibt die theoretische Verteilung des inaktiven Wuchsstoffes, berechnet aus den Durchschnittswerten der 4 Agarscheiben für x, wieder. Zum Vergleich sind noch einmal die gefundenen Werte aufgeführt. In fast allen Fällen enthält die oberste Scheibe zu viel, die unterste Scheibe zu wenig Wuchsstoff, was leicht verständlich wird, wenn ein rasch diffundierender Hemmstoff die Wuchsstoffwirkung in den untersten Scheiben abschwächt.

Tabelle 3. *Prozentuale Verteilung des inaktiven Wuchsstoffes in den 4 Agarscheiben nach 1stündiger Diffusion.*

x-Werte	Theoretische Verteilung	Gefundene Verteilung
0,218	50,0	49,5
	32,0	29,7
	15,7	13,8
	6,2	6,9
0,220	46,2	50,8
	32,0	29,6
	15,6	14,1
	6,1	5,5
0,235	47,5	49,1
	32,2	31,4
	14,8	17,6
	5,5	1,9
0,097	33,4	36,2
Mittelwert aus	28,4	25,5
5 Versuchen	21,4	21,5
	16,8	16,8

Der aufsteigende Wirkstoffstrom der Koleoptile enthält also, nach den Ergebnissen der Diffusionsversuche, einen inaktiven Wuchsstoff mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung der β-Indolessigsäure. Diesem ist aber ein 2. Stoff, sehr wahrscheinlich ein Hemmstoff mit kleinerem Molekulargewicht, beigemischt.

Die Anwesenheit eines Hemmstoffes im aufsteigenden Wirkstoffstrom der Koleoptile halten auch FUNKE und SÖDING (1948) für möglich. Wurde nämlich in ihren Versuchen Filtrierpapier statt Agarwürfel zum Abfangen benutzt, so blieben die Testzylinder durch Behandlung mit dem so gewonnenen Stoff im Wachstum unter dem der Kontrolle, Eine eigene Wiederholung dieser Versuche mit aschefreiem Filtrierpapier, aus dem der abgefangene Wirkstoff mit Aqua bidest. ausgewaschen worden war, verlief jedoch mit demselben Ergebnis wie meine Versuche, in denen ich Agarwürfel zum Abfangen benutzte. Wahrscheinlich beruht die Hemmung in den Versuchen von FUNKE und SÖDING auf der Beschaffenheit des von ihnen verwandten Filtrierpapiers. Es läßt sich mit dieser Methode die Anwesenheit eines Hemmstoffes nicht nachweisen.

Nachweis der neutralen Natur des inaktiven Wuchsstoffes.

Zur Klärung dieser Frage benutzte ich die Methode, die LARSEN (1944) und HEMBERG (1947) zur Trennung von neutralem und saurem

Wuchsstoff anwendeten. Neutraler Wuchsstoff läßt sich mit Äther oder Chloroform sowohl aus einer sauren als auch aus einer alkalischen Lösung ausschütteln. Saurer Wuchsstoff wird dagegen in einer Lösung von $NaHCO_3$ zurückgehalten. Entsprechend würde ein basischer Wuchsstoff in einer sauren Lösung zurückbleiben. 10 cm³ Aqua bidest., welches den Wuchsstoff aus 200 Agarwürfeln enthielt, wurde zur Hälfte mit 0,5 cm³ 8%iger $NaHCO_3$, zur Hälfte mit 7 Tropfen 1,5%iger Weinsäure (p_H 3) versetzt und mit je 10 cm³ Chloroform 3mal ausgeschüttelt. Das Chloroform wurde auf dem Wasserbad verdampft, der Rückstand mit

Tabelle 4. *Inaktiver Wuchsstoff mit Chloroform aus alkalischer und saurer Lösung ausgeschüttelt.*
Wachstumsförderung in Prozent der Kontrollen.

Datum	Wuchsstoff unbehandelt 2fach konzentriert	Wuchsstoff aus alkalischer Lösung ausgeschüttelt	Alkalische Lösung + Säure	Wuchsstoff aus saurer Lösung ausgeschüttelt	Saure Lösung + Alkali
			4fach konzentriert.		
26. 6. 51	42,1	44,8	20,0	—	—
29. 6. 51	27,1	33,7	—	29,1	—
			3fach konzentriert.		
3. 7. 51	52,9	—	—	23,0	—
6. 7. 51	55,5	—	—	47,4	—
11. 7. 51	—	24,8	—	—	—
13. 7. 51	—	(10,0)	16,0	—	—
26.7. 51	35,3	(11,3)	14,6	12,7	0
9. 9. 51	34,8	—	—	18,9	0
14. 9. 51	37,7	—	—	25,6	7,5

Aqua bidest. aufgenommen, auf Agarwürfel geträufelt und diese getestet. Zur Kontrolle wurde eine gleiche saure und eine alkalische Lösung ohne Wuchsstoff ebenfalls mit Chloroform ausgeschüttelt. Es zeigte sich, daß das mit $NaHCO_3$ behandelte Präparat den Zuwachs der Testzylinder im Vergleich mit der Kontrolle aus reinem Agar etwas hemmte. Sehr wahrscheinlich beruhte diese Hemmung auf Spuren von $NaHCO_3$, die in das Chloroform gekommen waren. Ich verglich nun jeweils den Zuwachs durch den unbehandelten Wuchsstoff mit dem der Kontrolle aus reinem Agar und den aus saurer und aus alkalischer Lösung ausgeschüttelten Wuchsstoff jeweils mit den entsprechenden Kontrollen. Die Tabelle 4 zeigt, daß sich der inaktive Wuchsstoff sowohl aus saurer als auch aus alkalischer Lösung mit Chloroform ausschütteln läßt. Er kann also weder sauer noch basisch sein, sondern muß neutralen Charakter haben.

Wie schon LARSEN (1944) angibt, treten beim Ausschütteln von neutralem Wuchsstoff mit Äther Verluste auf. Bei meinen Versuchen

gelang eine quantitative Ausschüttelung ebenfalls nicht. In einigen Fällen ließ sich aber aus einer Lösung, aus der bei alkalischer Reaktion schon der neutrale Wuchsstoff gewonnen worden war, nach Ansäuern nochmals Wuchsstoff gewinnen. Dagegen konnte aus einer sauren Lösung mit Chloroform schon der gesamte Wuchsstoff entfernt werden. Ein weiteres Ausschütteln bei alkalischer Reaktion war ohne Erfolg. Der Zuwachswert im letzten Versuch in Tabelle 4 liegt innerhalb der Fehlergrenze. Es ist möglich, daß dem inaktiven Wuchsstoff auch etwas saurer Wuchsstoff beigemischt ist, der beim Ausschütteln in alkalischer Lösung bleibt, aus einer sauren Lösung aber in das Chloroform übergeht. Der größte Teil des abgefangenen Wuchsstoffes ist aber neutraler Natur.

Behandlung mit Säuren und Laugen.

Funke und Söding (1948) schlossen aus ihren Versuchen, daß der inaktive Wuchsstoff gegen Säuren empfindlich ist. Schon eine Behandlung mit einer ganz schwach konzentrierten Salzsäure zerstörte den Wuchsstoff aus zerriebenen Haferkoleoptilen vollständig. Dagegen war der inaktive Wuchsstoff, wenigstens derjenige aus Kartoffelknollen, anscheinend laugenfest, denn durch kurze Behandlung mit heißem Ammoniumhydroxyd wurde seine Wirksamkeit nicht aufgehoben. Ich prüfte noch einmal das Verhalten gegen 1 *n* HCl, indem ich die Säure 10 Min. in der Kälte einwirken ließ und dann auf dem Wasserbad abdampfte. Der so behandelte Wuchsstoff hatte seine Wirksamkeit vollständig verloren.

Um das Verhalten gegen Lauge festzustellen, wurde der Rückstand aus einer abgedampften Wuchsstofflösung mit 3 cm^3 1 *n* NaOH versetzt und unter dem Rückflußkühler auf dem Wasserbad 3 Std lang gekocht. Darauf wurde die alkalische Lösung mit 15%iger Weinsäure neutralisiert und auf p_H 3 gebracht und mit je 5 cm^3 Chloroform 3mal ausgeschüttelt. Durch diese Behandlung wurde der Wuchsstoff ebenfalls zerstört.

Der inaktive Wuchsstoff zeigte sich also, im Gegensatz zu den aktiven sauren Wuchsstoffen, aber in Übereinstimmung mit dem β-Indolacetaldehyd, empfindlich sowohl gegen Säuren als auch gegen Laugen, wenigstens bei der angewandten Behandlung.

Prüfung des inaktiven Wuchsstoffes auf Identität mit Indolacetaldehyd.

Das Molekulargewicht sowie die Empfindlichkeit gegen Säuren und Laugen ließen zunächst vermuten, daß es sich bei dem inaktiven Wuchsstoff um den β-Indolacetaldehyd handelt. Larsen (1944), der diesen Stoff aus verschiedenen Pflanzen extrahierte, fand so hergestellte Präparate von Erbsenkeimlingen im Gegensatz zu anderen Extrakten oder der reinen Substanz im Hafertest inaktiv. Eine Wirkung der Erbsenpräparate zeigte sich aber, nachdem sie mit Erde oder dem Schardinger-Enzym der

Milch behandelt und die Substanz wohl in die β-Indolessigsäure umgewandelt worden war. Nach der von LARSEN beschriebenen Methode behandelte ich den inaktiven Haferwuchsstoff mit Erde.

Wuchsstoffhaltige Agarwürfel wurden mit einer dünnen Scheibe Agar belegt und darauf eine dünne Schicht angefeuchteter Erde gebracht. Nach 7stündiger Einwirkungszeit prüfte ich die Wirkung des Wuchsstoffes auf frisch geschnittene Zylinder. Wenn eine Umwandlung des inaktiven Wuchsstoffes in einen aktiven stattgefunden haben sollte, so mußte eine Wachstumsförderung sofort auftreten. Das behandelte Präparat zeigte jedoch dieselbe verzögerte Wirkung, die erst nach 7 Std langsam einsetzt, wie das unbehandelte. Der inaktive Haferwuchsstoff scheint daher nicht mit dem β-Indolacetaldehyd identisch zu sein. Auch seine Unempfindlichkeit gegen H_2O_2, die FUNKE und SÖDING (1948) nachwiesen, spricht nicht dafür. In einem Versuch prüfte ich nochmals seine Stabilität gegen Oxydationsmittel, und zwar behandelte ich den inaktiven Wuchsstoff mit einer alkalischen Silbernitratlösung nach Einhorn (LARSEN 1944). Eine Verdünnung dieser Lösung von 1:10000, der 0,8% $NaHCO_3$ zugesetzt wurde (p_H 8,75), zerstörte nach LARSEN den β-Indolacetaldehyd vollständig. Der inaktive Wuchsstoff war jedoch nach dieser Behandlung noch wirksam. HEMBERG (1947) vermutet, daß der neutrale Wuchsstoff der Kartoffelknolle zu einem Teil aus β-Indoläthylalkohol besteht. Dieser Stoff wurde bereits von LARSEN (1947) im Hafertest geprüft und erwies sich hier als wirkungslos. Die Möglichkeit liegt aber nahe, daß er im Zylindertest während einer längeren Testzeit in aktiven Wuchsstoff umgewandelt wird. In weiteren Versuchen soll deshalb die Wirkung von Tryptophol auf Koleoptilzylinder geprüft und mit der des inaktiven Haferwuchsstoffes verglichen werden.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Molekulargewichtsbestimmungen des inaktiven Wuchsstoffes der Haferkoleoptile haben gezeigt, daß es sich nicht um ein Derivat des Auxins handeln kann. Das Molekulargewicht stimmt vielmehr annähernd mit dem der β-Indolessigsäure überein. Daß Auxin nicht der einzige Haferwuchsstoff ist, konnten WILDMAN und BONNER (1948) nachweisen. Es gelang ihnen, durch Extraktion der Koleoptilen mit Äther sowie durch Reinigen des aus Koleoptilspitzen diffundierten Wuchsstoffes, die β-Indolessigsäure zu isolieren. Nach REINERT (1951) sind sogar 90 bis 95% der gesamten mit Äther extrahierbaren Wuchsstoffmenge der Haferkoleoptile Heteroauxin. Es sind also *zwei* Wuchsstoffe nachweisbar. Die Vorstufe, welche aus dem Endosperm in der Koleoptile aufsteigt, steht aber jedenfalls in Beziehung zur β-Indolessigsäure, deren inaktives Derivat sie ist.

TEGETHOFF (1951) und POHL (1951) untersuchten den inaktiven Wuchsstoff des Maisskutellums. Durch Behandlung mit Alkali ließ sich

ein aktiver Wuchsstoff abspalten. Aus Maisskutellen konnte auch ein Hemmstoff isoliert werden, der den Wuchsstoff des Endosperms inaktiviert. Da der Hemmstoff in derselben Weise mit synthetischer β-Indolessigsäure reagierte, halten die Verfasser den inaktivierten Endospermwuchsstoff ebenfalls für eine gebundene Form des Heteroauxins. Hemmstoff und Wuchsstoff sollen nach TEGETHOFF zusammen einen neuen Stoff, den inaktiven Wuchsstoff bilden. Dieser wandert in die Koleoptilenspitze, wo er in Wuchsstoff und Hemmstoff gespalten wird. Ein Extrakt aus Koleoptilspitzen konnte den Hemmstoff vollständig abbauen, so daß die freie β-Indolessigsäure nun allein wirkte. Nach POHL besteht die Möglichkeit, daß auch der Hemmstoff ein Indolabkömmling ist, dem aber die wachstumsfördernde COOH-Gruppe fehlt. Das niedrige Molekulargewicht des aufsteigenden inaktiven Wuchsstoffes schließt diese Theorie aus. Ein Stoff, der aus 2 Indolabkömmlingen besteht, müßte etwa ein Molekulargewicht in der Größe des Auxins haben. Der aufsteigende Wuchsstoff der Koleoptile kann also nicht mit dem inaktiven Wuchsstoff des Skutellums (nach TEGETHOFF) identisch sein. Nach dem Molekulargewicht könnte man auf β-Indolacetaldehyd schließen. Auch die neutrale Natur, sowie die Säuren- und Laugenempfindlichkeit hat der inaktive Wuchsstoff mit dem β-Indolacetaldehyd gemeinsam. Dagegen lassen seine Unempfindlichkeit gegen Oxydationsmittel, welche schon Voss (1939), FUNKE (1943) und FUNKE und SÖDING (1948) nachwiesen, diesen Schluß nicht zu. Auch verursachte der β-Indolacetaldehyd, den LARSEN (1944) aus verschiedenen Pflanzen extrahierte, Krümmungen im Hafertest. Neutraler Wuchsstoff aus etiolierten Erbsenkeimlingen hatte zwar keine Wirkung im Hafertest, konnte aber mit Erde oder mit dem Schardinger-Enzym der Milch in β-Indolessigsäure umgewandelt werden. Behandlung mit Erde zeigte sich bei dem inaktiven Wuchsstoff aber ebenfalls wirkungslos. Dagegen ist es vielleicht möglich, daß β-Indoläthylalkohol, der im Hafertest fast unwirksam ist (LARSEN 1947), nach einer gewissen Zeit von Koleoptilzylindern aktiviert werden könnte. Auch Tryptophan wirkt wie ein inaktiver Wuchsstoff. WILDMAN und MUIR (1949) stellten die Hypothese auf, daß Tryptophan die Vorstufe für Wuchsstoff in Pflanzen ist. Ein Enzym in Tabakovarien wandelte es in kurzer Zeit in β-Indolessigsäure um. Verschiedene Pflanzenteile, z. B. Tomatenstengelspitzen, Karottenwurzeln und die Spitzen etiolierter Avenakoleoptilen waren in derselben Weise wirksam. Im „deseeded" Avenatest (SKOOG 1937) wirkte Tryptophan wie der aufsteigende inaktive Wuchsstoff der Haferkoleoptile, nur etwas stärker. Tryptamin verhielt sich ebenso. Nach WENT und THIMANN (1937) können diese Stoffe, die selbst keinen Einfluß auf das Streckungswachstum haben, durch Enzyme der Pflanze in aktiven Wuchsstoff umgewandelt werden. Da Tryptamin eine Base ist, kann es

nicht mit dem inaktiven Wuchsstoff des Hafers identisch sein. Ob der inaktive Wuchsstoff mit Tryptophan identisch ist, ist fraglich. Schon das Molekulargewicht (204) spricht dagegen. Auch ist es unwahrscheinlich, daß die Pflanze den Endospermwuchsstoff bis zu Tryptophan umbaut, um dieses in der Koleoptilspitze wieder in β-Indolessigsäure umzuwandeln. Dagegen halte ich eine Umwandlung der β-Indolessigsäure in den Alkohol und umgekehrt für eher wahrscheinlich[1].

Zusammenfassung.

Mittels der Diffusionsmethode wurde für den aufsteigenden inaktiven Wuchsstoff der Haferkoleoptile ein Molekulargewicht ungefähr um 170 bestimmt. Das entspricht annähernd dem der β-Indolessigsäure von 175. Der inaktive Wuchsstoff ist daher jedenfalls ein Derivat dieser Säure. Er ist eine neutrale Substanz und gegen Säuren und Laugen empfindlich.

Herrn Prof. Dr. H. Söding, der mir oftmals zu eingehender Besprechung Gelegenheit gab, danke ich für seine wertvollen Ratschläge bei der Ausführung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt ferner dem Direktor des Instituts, Herrn Prof. Dr. Mevius, der mir freundlicherweise einen Arbeitsplatz zur Verfügung stellte.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für eine Beihilfe zur Durchführung der Versuche zu Dank verpflichtet.

[1] *Anmerkung bei der Korrektur.* Inzwischen durchgeführte weitere Versuche mit einem synthetischen Präparat von β-Indoläthylalkohol zeigten, daß diese Substanz gleichfalls mit dem natürlichen inaktiven Wuchsstoff nicht identisch ist. Sie kann zwar nach Bildung einer physiologischen Spitze sehr schnell aktiviert werden, unterscheidet sich aber vom inaktiven Wuchsstoff durch ihr Verhalten gegenüber Säure, Lauge und Wasserstoffsuperoxyd.

Literatur.

Avery jr., G. S., J. Berger and B. Shalucha: Amer. J. Bot. **28**, 596 (1941). — Berger, J., and G. S. Avery jr.: Amer. J. Bot. **31**, 199 (1944). — Funke, H.: Jb. Bot. **91**, 54 (1943). — Funke, H., u. H. Söding: Planta (Berl.) **36**, 341 (1948). — Guttenberg, H. v.: Fortschr. Bot. **12**, 323 (1948). — Guttenberg, H. v., u. E. Lehle-Jörges: Planta (Berl.) **35**, 281 (1947). — Haagen-Smit, A. J., W. D. Leech and W. R. Bergen: Amer. J. Bot. **29**, 500 (1942). — Hemberg, T.: Acta Horti Bergiani **14**, 133 (1947). — Kawalki, W.: Ann. Phys. u. Chem., N. F. **52**, 166 (1894). — Kramer, M., and F. W. Went: Plant Physiol. **24**, 207 (1949). — Larsen, P.: Dansk Bot. Arkiv **11**, 1 (1944). — Nature (Lond.) **159**, 842 (1947). — Amer. J. Bot. **36**, 32 (1949). — Pohl, R.: Planta (Berl.) **25**, 720 (1936); **39**, 105 (1951). — Biol. Zbl. **70**, 285 (1951). — Skoog, F.: J. of Gen. Physiol. **20**, 311 (1937). — Tegethoff, B.: Planta (Berl.) **38**, 648 (1951). — Voss, H.: Planta (Berl.) **30**, 252 (1939). — Wildman, S. G., and J. Bonner: Amer. J. Bot. **35**, 740 (1948). — Wildman, S. G., and R. M. Muir: Plant Physiol. **24**, 84 (1949). — Went, F. W., and K. V. Thimann: Phytohormones. New York 1937.

Dr. Edith Raadts, (24a) Hamburg 36, Jungiusstraße 6,
Institut für allgemeine Botanik.

Planta, Bd. 40, S. 431—442 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock.

ÜBER DEN EINFLUSS VON WIRKSTOFFEN AUF DIE WASSERPERMEABILITÄT DES PROTOPLASMAS.

II. Mitteilung.

ÜBER DEN EINFLUSS DES p_H-WERTES UND DER TEMPERATUR AUF DIE DURCH HETEROAUXIN BEDINGTEN VERÄNDERUNGEN DER WASSERPERMEABILITÄT *.

Von

HERMANN v. GUTTENBERG und GERHARD MEINL.

(Eingegangen am 2. März 1952.)

1. Einleitung.

In einer ersten Mitteilung „Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas" (v. GUTTENBERG und BEYTHIEN 1951) konnten wir zeigen, daß Wirkstoffe die Permeabilitätsverhältnisse auffällig beeinflussen. Diese Beeinflussung kann teils in einem extrem fördernden, teils in einem hemmenden Sinn erfolgen. Aus dem völlig gleichsinnigen Verlauf dieser Förderung oder Hemmung mit der Wirkung der in Frage kommenden Stoffe im Avenatest zogen wir den Schluß, daß der Primäreffekt dieser Stoffe auch im Wachstumsprozeß eine Veränderung der Wasserpermeabilität sei. Bei Elektrolyten war daran zu denken, daß die mit den Konzentrationen schwankenden p_H-Werte gleichfalls permeabilitätsändernd wirken mußten. In Vorversuchen war zwar ermittelt worden, daß z. B. die Wirkung des Heteroauxins (im folgenden mit HA. abgekürzt) eine spezifische und nicht einfach eine p_H-bedingte ist. Doch schien es notwendig, dieses Ergebnis exakter und auf breiterer Grundlage zu überprüfen. Dazu kam, daß neue Arbeiten von POHL (1949) und SEEMANN (1949), die sich mit der Wasserpermeabilität beschäftigen und dadurch für unsere Untersuchungen von Bedeutung sind, sich in einigen Punkten widersprechen.

POHL sowohl als auch SEEMANN stellten fest, daß der p_H-Wert einen bedeutenden Einfluß auf die Wasserpermeabilität des Protoplasten ausübt. Nach POHL soll auch der Wirkungsgrad des HA. vom jeweiligen p_H und von der Konzentration der Pufferlösung abhängen.

Untersuchungen über die Permeabilitätsänderung für Wasser in verschiedenen p_H-Bereichen liegen ferner unter anderem von STRUGGER (1934) und von L. und M. BRAUNER (1943) vor. Sie prüften zwischen p_H 5,0 und p_H 6,8 einerseits und p_H 3.5 bis p_H 7.9 andererseits und stellten fest, daß die Geschwindigkeit der Protoplastenkontraktion im Bereich p_H 5,9 (bei Wurzelhaaren von *Hordeum vulgare*) bzw. 5.3 (bei

* Herrn Prof. Dr. HANS FITTING zu seinem 75. Geburtstag gewidmet.

der Innenepidermis von *Allium cepa*-Zwiebelschuppen) am größten ist. Daraus schlossen sie, daß bei diesen p_H-Werten der isoelektrische Punkt läge. Entsprechende Ergebnisse erzielte PFEIFFER (1931) bei Untersuchungen der Epidermen von *Rumex*, *Allium* und *Agave*.

Demgegenüber findet SEEMANN bei *Spirogyra* und *Cladophora* die größte Beschleunigung der Protoplastenkontraktion im Neutralpunkt. Übereinstimmend stellen aber POHL, SEEMANN und BRAUNER die Eingipfeligkeit der p_H-Wirkungskurve fest.

Diese Ergebnisse veranlaßten uns zu untersuchen, ob HA. nur in der vorstehend festgestellten Weise als organische Säure wirkt, oder ob auch eine besondere, vom jeweiligen p_H-Wert weitgehend unabhängige Wirkungsweise festzustellen ist.

II. Material und Methode.

Die Untersuchungen wurden wieder nach der Plasmolyse-Deplasmolyse-Zeitmethode durchgeführt und die angegebenen Meßwerte während der Deplasmolyse gewonnen. Auch BRAUNER, SEEMANN, STRUGGER und PFEIFFER hatten sehr gute Erfolge mit dieser Methode erzielt, so daß die Einwände POHLs — die Plasmolyse-Deplasmolysemethode biete nicht die Möglichkeit exakter Untersuchungen — nicht zutreffend erscheinen.

Als Untersuchungsobjekt fanden, wie bisher, die Zellen der Blattunterseite von *Rhoeo discolor* Verwendung. Ein Plasmolytikum, dessen Unschädlichkeit und Unvermögen zu permeieren durch die Untersuchungen von V. GUTTENBERG und BEYTHIEN festgestellt wurde, ist Mannit. So wurde wie in früheren Versuchen Mannit als Plasmolytikum und Deplasmolytikum verwandt.

Alle Lösungen wurden in destilliertem Wasser angesetzt. Die Mannitlösungen stellten wir durch Verdünnen einer 0,5 molaren Stammlösung her.

Die erst etwa 15 min in Aqua dest. gebadeten Schnitte wurden in 0,4 molarer Mannitlösung plasmolysiert. Die Plasmolysezeit betrug durchschnittlich 50 min bei etwa 21° C und gutem Tageslicht. Die Konzentration des Plasmolytikums mußte gegenüber den früher durchgeführten Versuchen, bei denen sie meist 0,3 Mol betrug, etwas erhöht werden. Das dürfte einmal auf jahreszeitlicher Verschiedenheit, zum zweiten aber darauf beruhen, daß nur jüngere Blätter zur Verfügung standen, deren Plasmaviskosität nach den Untersuchungen von STRUGGER größer ist. Nach Abspülen in Aqua dest. wurde in 0,3 molarer Mannitlösung (Grenzplasmolyse) mit den jeweiligen Zusätzen deplasmolysiert.

Die Beobachtung erfolgte bei gutem Tageslicht zur Mittagszeit, so daß größere Beleuchtungsdifferenzen nicht auftraten.

Die p_H-Werte bestimmten wir auf 0,1 p_H genau an einem Ionometer mit Chinhydronelektrode; zur Messung kam jeweils das Deplasmolytikum mit Zusätzen.

Alle angeführten Tabellen wurden nach dem Zählverfahren von KACZMAREK (1929) ermittelt.

3. Versuchsergebnisse.

a) Der Einfluß des p_H-Wertes auf die Heteroauxinwirkung.

Nach Feststellung des p_H-Wertes der verschiedenen HA.-Konzentrationen wurde der Grundversuch von V. GUTTENBERG und BEYTHIEN

nochmals wiederholt. Als Kontrolle diente Aqua dest. mit 0,3 mol. Mannit.

Ein Vergleich mit den Angaben in der Arbeit von v. GUTTENBERG und BEYTHIEN (Tabelle 1) zeigt im Prinzip beste Übereinstimmung. Auch jetzt erfolgte in HA. 10^{-3} Protoplastenzerstörung; in 10^{-4} trat

Tabelle 1. *Deplasmolyse mit Heteroauxinzusatz.*
29. 1. 51, Temperatur: 21° C; Kontrolle: Aqua dest. mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Kontrolle Aqua dest. pH 6,4	Heteroauxinkonzentration, pH				
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
		3,7	4,1	5,1	6,0	6,2
10	49	Zerstörung	68	72	78	86
15	29	in	58	54	22	12
20	24	20 min	49	36	6	2
25	13		40	18	2	0
30	4		35	6	0	
35	0		32	3		
40	0		28	0		

stark verzögerte Deplasmolyse ein, nur war die Anzahl der dauernd plasmolysierten Zellen jetzt geringer. Bei HA. 10^{-5} war 100%ige Deplasmolyse wieder nach 40 min erreicht, in 10^{-6} bei 30 min, in 10^{-7} nach 25 min gegenüber 35 min und 25 min der früheren Versuche.

Zur Kontrolle, ob der p_H-Wert der verschiedenen Konzentrationen die hemmende oder fördernde Wirkung hervorruft, wurden nun Versuchsreihen mit HCl in verschiedenen Verdünnungsgraden und damit abgestuften p_H-Werten angestellt. Als Kontrollösung fand wieder Aqua dest. mit 0,3 mol. Mannit Verwendung.

Tabelle 2. *Deplasmolyse, angesäuert mit HCl.*
30. 1. 51, Temperatur: 20° C; Kontrolle: Aqua dest. mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Aqua dest. pH 6,4	HCl, pH					
		3,8	4,6	4,9	5,4	5,8	6,0
10	46	58	47	45	40	44	48
15	37	43	39	38	21	27	37
20	24	27	18	19	12	17	21
25	18	20	12	10	4	7	12
30	9	11	7	2	0	1	4
35	2	8	2	0		0	0
40	0	3	0				

Die Tabelle zeigt zunächst, daß im Gegensatz zu HA. 10^{-3} mit einem p_H-Wert von 3,7, Salzsäure bei p_H 3,8 keine Zerstörung der Protoplasten, sondern nur eine geringe Verzögerung der Deplasmolyse bewirkt.

In den folgenden p_H-Bereichen ist eine Beschleunigung der Deplasmolyse zu beobachten, die ihren Höchstwert zwischen p_H 5,4 und 5,8 erreicht. Zum Neutralpunkt hin ist wieder eine allmähliche Verlangsamung zu erkennen. Es ergibt sich also eine eingipfelige Kurve.

Ein Vergleich mit der HA.-Tabelle 1 zeigt ferner folgende deutliche Unterschiede. Im Salzsäure-p_H-Bereich 3,8—4,6 tritt die in HA. 10^{-4} (p_H 4,1) beobachtete weitgehende Hemmung, die bis zur Dauerplasmolyse führt, nicht ein. *Diese Hemmung* und die früher erwähnte *Zerstörung* sind also *reine HA.-Effekte*. Im HCl p_H 4,6—4,9 — etwa entsprechend HA. 10^{-5} — erfolgt die Beschleunigung etwas ausgiebiger (30 und 35 min gegenüber 40 min). HCl p_H 5,6—6,0 und HA. 10^{-6} (p_H 6,0) zeigen zunächst ähnliche Effekte. Nunmehr folgt aber der entscheidende Unterschied. Der HCl-p_H-Wert 5,4 zeigt die größte Beschleunigung, auf die von p_H 5,8 über p_H 6,0 nach p_H 6,4 (Kontrolle) eine deutliche *Verlängerung* der Deplasmolysezeit folgte. Im völligen Gegensatz dazu *verkürzt* sich diese Zeit bei HA. 10^{-6} und 10^{-7} bis zum Minimum, so daß sie bei der letzten Verdünnung nur noch 20 min gegenüber 30 min bei p_H 6,0 beträgt. Somit ist auch die Wirkung der physiologisch wichtigsten HA.-Konzentrationen (10^{-6} und 10^{-7}) eine ausgesprochen spezifische.

Derselbe Versuch wurde mit einer organischen Säure wiederholt. Als günstig erwies sich Zitronensäure, die nach BRENNER (1918) im allgemeinen keinen schädigenden Einfluß auf das Plasma ausübt.

Tabelle 3. *Deplasmolyse mit Zitronensäurezusatz.* 1. 2. 51, Temperatur: 21° C.

Zeit min	Aqua dest. p_H 6,4	Zitronensäure, p_H							
		1,3	2,1	3,1	4,1	4,8	5,6	5,7	5,8
10	54	Zer-	100	60	54	50	52	53	52
15	42	störung	100	52	45	43	40	39	43
20	30	in	98	41	33	28	27	28	32
25	18	25 min	90	33	21	16	15	19	20
30	7		82	21	12	7	4	6	7
35	3		78	10	7	2	0	0	0
40	1		74	4	2	0			
50				2	0				

Im p_H-Bereich 1,3 platzen nach einer Einwirkungszeit von 25 bis 30 min sämtliche Protoplasten und laufen aus. Dies kommt in Einzelfällen auch bei p_H 2,1 nach 50 min Behandlungsdauer vor. Im anschließenden p_H-Bereich verläuft die Kurve ähnlich wie bei HCl, die größte Beschleunigung der Deplasmolyse liegt wieder zwischen p_H 5,4 und 5,8. Bemerkenswert erscheint uns die Tatsache, daß im p_H-Bereich 2,1, ähnlich wie in der HA.-Konzentration 10^{-4}, eine weitgehende Dauerplasmolyse erreicht wird. Auch der Wert 3,1 zeigt gegenüber der

Kontrolle noch eine Verzögerung. Eine Umkehr der Wirkung war bei p_H 5,8 noch nicht eingetreten, sie wird erst bei der Kontrolle — p_H 6,4 — deutlich.

Als Parallelversuch zu SEEMANN führten wir nun eine Untersuchung mit abgestuften Pufferlösungen über eine breite Skala durch. Verwendung dazu fand der Dinatrium-Zitratpuffer nach SÖRENSEN in einer Konzentration von $^1/_{10}$ und $^1/_{150}$ Mol.

Tabelle 4. *Deplasmolyse mit Dinatrium-Zitratpuffer, Konzentration $^1/_{10}$ Mol.* 5. 2. 51, Temperatur: 20° C; Kontrolle: Aqua dest. mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Aqua dest. p_H 6,4	Dinatrium-Zitratpuffer, p_H									
		3,9	4,0	4,2	4,4	4,8	5,0	5,4	5,6	6,0	7,5
10	49	64	61	57	54	51	51	49	51	53	64
15	38	55	52	49	43	42	43	40	41	42	56
20	30	46	44	40	34	34	32	31	30	35	45
25	23	37	35	33	26	22	21	19	19	26	36
30	15	30	28	24	18	13	11	12	11	19	25
35	7	21	19	15	10	6	3	4	3	11	18
40	2	14	11	8	5	1	0	0	0	5	12
50	0	6	3	1	0	0				0	8
60		1	0	0							6

Auch in $^1/_{10}$ Mol Pufferlösung ist also ein ähnlicher Kurvenverlauf wie bei HCl zu beobachten. Das Förderungsmaximum liegt bei p_H 5,4 bis 5,6. Zu beiden Seiten dieses Bereiches findet eine Hemmung statt. Bei p_H 8,5 erfolgt eine Veränderung und Zerstörung der Protoplasten.

In der anschließenden Tabelle mit $^1/_{150}$ Mol Pufferkonzentration sind gleichartige Ergebnisse zu beobachten.

Anschließend prüften wir die Wirkung der Askorbinsäure. Diese sehr schwache organische Säure zeigte in den früher in unserem Institut

Tabelle 5. *Deplasmolyse mit Zusatz von Dinatrium-Zitratpuffer nach* SÖRENSEN, *Pufferkonzentration $^1/_{150}$ Mol.*
5. 2. 51, Temperatur: 21° C; Kontrolle: Aqua dest. mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Aqua dest. p_H 6,4	Dinatrium-Zitratpuffer, p_H									
		3,9	4,0	4,2	4,4	4,8	5,0	5,4	5,6	6,0	75
10	52	60	56	56	55	50	52	50	51	52	62
15	40	51	48	46	44	39	43	41	40	44	53
20	31	42	39	38	37	30	34	32	31	36	45
25	23	35	30	30	28	22	22	21	20	24	37
30	16	27	21	19	17	14	12	11	10	18	24
35	9	19	14	12	8	8	4	3	2	8	20
40	3	9	6	4	3	4	1	0	0	4	17
50	0	4	1	1	0	0	0			0	14

Tabelle 6. *Deplasmolyse mit Zusatz reiner Askorbinsäure.*
18. 2. 51, Temperatur: 21° C; Kontrolle: Leitungswasser mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Leitungswasser p_H 7,2	Askorbinsäure: Konzentration, p_H						
		10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
		5,7	6,2	6,5	6,7	6,9	7,0	7,0
10	63	Zer-	Zer-	65	57	58	58	61
15	52	störung	störung	54	46	48	47	52
20	42	in	in	41	38	40	39	44
25	33	20 min	25 min	39	20	28	26	32
30	22			22	16	17	15	20
35	13			16	7	6	9	12
40	6			8	2	0	2	6
50	2			2	0		9	1

durchgeführten Versuchen einen besonderen Wirkungseffekt. Demgegenüber stellte VELDSTRA (1943) fest, daß Askorbinsäure im Kressewurzeltest keinerlei Wirkung erkennen läßt.

In unserem Versuch zeigt sich, deutlicher noch als bei HA. die spezifische Wirkung der Askorbinsäure. In den Konzentrationen 10^{-2} (p_H 5,7) und 10^{-3} (p_H 6,2) erfolgt innerhalb von 20 bzw. 25 min eine restlose Zerstörung der Protoplasten. 10^{-6} (p_H 6,9) läßt die stärkste Förderung erkennen, während in den Säureversuchen bei diesem p_H-Wert schon eine deutliche Verlangsamung der Deplasmolysezeit eintrat. Eine solche ist in Askorbinsäure erst in 10^{-7} und 10^{-8} zu beobachten. Die Kontrolle der Tabelle 6 (p_H 7,2) stimmt übrigens mit dem p_H-Wert 7,5 der Tabelle 4 gut überein. In beiden Fällen finden wir die gleiche starke Verzögerung. Um auf die Versuche von POHL nochmals einzugehen, untersuchten wir den Wirkungsgrad des HA. in 3 verschieden abgepufferten p_H-Bereichen. POHL führte seine Untersuchungen nur mit der physiologisch wirksamsten Konzentration von 10^{-7} g/cm³ oder höchstens 2mal 10^{-7} g/cm³ durch. Unsere Beobachtungen sollen dagegen Aufschluß über die Wirkung der Konzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-7} geben.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen decken sich mit den mittleren Werten von POHL sehr gut. Widersprechende Ergebnisse erhielten wir allerdings über die zerstörend wirkende H-Ionenkonzentration. Die in Anschluß angeführten Tabellen 7 und 9 lassen erkennen, daß die zerstörende Wirkung des HA. weder durch den p_H-Wert 7,0 noch den von 3,4 aufgehoben werden kann.

Aus der Tabelle 7 ist ferner zu entnehmen, daß der spezifische Wirkungseffekt des HA. in neutral gepuffertem Medium zwar zeitlich etwas verlangsamt wird, aber im Prinzip der gleiche bleibt. Das ergibt sich besonders auch aus den völlig verschiedenen Werten von Kontrolle und HA. 10^{-7} bei dem gleichen p_H von 7,0.

Tabelle 7. *Deplasmolyse mit Heteroauxin in $^1/_{10}$ molarem Dinatrium-Zitratpuffer (p_H 7,0).*

22. 2. 51, Temperatur: 20° C; Kontrolle: $^1/_{10}$ mol. Zitratpuffer mit 0,3 mol. Mannitlösung.

Zeit min	Kontrolle p_H 7,0	Heteroauxinkonzentrationen				
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
10	61	Zer-	69	74	85	87
15	52	störung	50	56	41	41
20	46	in	44	38	22	18
25	36	25 min	38	21	12	7
30	27		34	12	3	0
35	19		34	3	0	
40	10		33	1		
50	1		33	0		

Tabelle 8. *Deplasmolyse mit Heteroauxin in $^1/_{10}$ molarem Dinatrium-Zitratpuffer (p_H 5,9).*

25. 2. 51, Temperatur: 22° C; Kontrolle: $^1/_{10}$ mol. Zitratpuffer mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Kontrolle p_H 5,9	Heteroauxinkonzentrationen				
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
10	52	Zer-	64	71	78	85
15	43	störung	52	60	57	24
20	36	in	47	43	31	6
25	23	20 min	43	27	14	0
30	12		40	10	0	
35	2		36	0		
40	0		32			
50			31			

Im Vergleich mit der vorhergehenden Versuchsreihe ist die Deplasmolysebeschleunigung im Dinatrium-Zitratpuffer p_H 5,9 etwas größer und ausgeprägter. Das erklärt sich zwanglos daraus, daß dies etwa dem p_H-Wert des HA. selbst bei der Konzentration 10^{-6} und 10^{-7} entspricht.

Interessant ist nun die Untersuchung des Wirkungsgrades von HA. in einer $^1/_{10}$ Mol Pufferlösung von einem $p_H = 3{,}4$.

Auch in der oben angeführten Tabelle 9 zeigt die Kontrolle — eine einfache Pufferlösung von p_H 3,4 — eine starke Hemmung entsprechend den früheren Versuchen in diesem p_H-Bereich. Dagegen herrscht bei HA.-Zusatz dessen spezifische Wirkung so sehr vor, daß gegenüber ungepuffertem HA. — Tabelle 1 — in diesem Milieu noch eine zusätzliche Beschleunigung erfolgt. Die höhere Azidität fördert die Wirkung der „physiologischen" HA.-Konzentrationen noch zusätzlich. Die Deplasmolyse ist in 20 min eingetreten.

Tabelle 9. *Deplasmolyse mit Heteroauxin in $^1/_{10}$ molarem Dinatrium-Zitratpuffer (p_H 3,4).*
25. 2. 51, Temperatur: 22° C; Kontrolle: $^1/_{10}$ mol. Zitratpuffer mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Kontrolle p_H 3,4	Heteroauxinkonzentrationen				
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
10	57	Zer-	69	76	82	89
15	48	störung	56	69	65	8
20	41	in	48	47	41	0
25	33	20 min	40	33	25	
30	27		38	20	9	
35	19		38	9	0	
40	9		38	1		
50	4		38	0		

Damit fanden wir auf direktem Wege eine Bestätigung der Aussagen von POHL. Danach wirkt HA. in niederer Konzentration bei hoher Azidität und Pufferkraft besonders permeabilitätssteigernd.

b) Der Einfluß der Temperatur auf den Heteroauxineffekt.

In den Untersuchungen von WEBER (1921), DERRY (1930) und STRUGGER (1934) wird die Temperatur als ein wichtiger Faktor in der Beeinflussung der Wasserpermeabilität des Protoplasten hervorgehoben. Auch in unserem Institut konnten wir feststellen, daß sowohl Jahreszeit als auch Temperatur Veränderungen im Deplasmolyseverlauf verursachen. Daher sollten die temperaturbedingten Veränderungen wenigstens in größeren Intervallen untersucht werden.

In der ersten Versuchserie plasmolysierten wir die Schnitte zunächst bei 20° C. Darauf wurden sie in ein Deplasmolytikum von + 2° C verbracht.

Tabelle 10. *Deplasmolyse mit Heteroauxin.*
11. 3. 51, Temperatur: 10° C; beide Kontrollen: Aqua dest. mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Kontrolltemperatur 21°	Kontrolltemperatur 10°	Heteroauxinkonzentrationen/Temperatur 10° C		
			10^{-3}	10^{-4}	10^{-7}
10	59	100	Zerstörung	96	71
15	42	92	in wenigen	93	62
20	33	88	Minuten	91	43
25	21	71		90	27
30	14	62		90	16
35	7	49		89	8
40	2	32		89	2
50	0	24		89	0
60		16		89	
90		9		89	
102		0		88	

Bereits nach 30 min konnten wir feststellen, daß alle Protoplasten geplatzt und ausgelaufen waren.

Die zweite Versuchsreihe, die uns Aufschluß über den Verlauf der Deplasmolyse bei $+10^0$ geben sollte, zeigte folgenden Verlauf (s. Tabelle 11).

Die Werte lassen eine deutliche Verlangsamung der Deplasmolyse gegenüber der Tabelle 1 erkennen. Die spezifische Wirkung des HA. blieb jedoch erhalten.

Im dritten Versuch verbrachten wir die bei 21^0 plasmolysierten Schnitte in ein Deplasmolytikum von 16^0.

Tabelle 11. *Deplasmolyse mit Heteroauxin.*
11.3.51, Temperatur: 16°C; beide Kontrollen: Aqua dest. mit 0,3 mol. Mannit.

Zeit min	Kontroll-temperatur 21°	Kontroll-temperatur 10°	Heteroauxinkonzentrationen/Temperatur 10° C		
			10^{-3}	10^{-4}	10^{-7}
10	55	92	Zerstörung	95	75
15	43	81	in 30 min	94	64
20	34	72		92	43
25	23	63		90	31
30	18	52		88	20
35	9	40		87	10
40	3	27		87	0
50	0	18		86	
70		4		86	
88		0		85	

Wir beobachteten auch jetzt noch eine Verlangsamung, die aber nicht mehr so bedeutend wie im vorherigen Versuch hervortrat. Vergleichen wir die Deplasmolysezeit für HA. 10^{-7} bei 21^0 und den entsprechenden Wert in Tabelle 11, so ergibt sich eine zeitliche Verlängerung der Deplasmolyse um etwa 100%.

Damit stimmen die Ergebnisse von Derry (1930) an *Spirogyra* gut überein, die eine doppelte Deplasmolysezeit bei 10^0 im Vergleich zur Kontrolle bei 22^0 erkennen lassen. Das Maximum der Beschleunigung liegt hier zwischen 20 und 25° C.

c) Modellversuche mit Gelatine.

Die im Laufe unserer Untersuchungen gemachten Erfahrungen ließen die Vermutung aufkommen, daß die durch das HA. ausgelösten Permeabilitätsveränderungen durch primär verursachte Änderungen des Quellungsgrades des Protoplasten zustande kämen. Es schien uns daher aufschlußreich, dies an einem passendem Modell direkt zu prüfen. In Vorversuchen stellte sich heraus, daß Gelatine, bedingt durch die starke Quellfähigkeit, für diese Untersuchungen recht geeignet war.

Wir brachten in den ersten Versuchen Gelatinestreifen von 30 × 10 mm, die aus einer Gelatinefolie von 0,5 mm herausgeschnitten waren, in abgestuften HA.-Lösungen zum Quellen und stellten die Längenzunahme fest. Während der Versuche wurde auf strenge Temperaturkonstanz geachtet; die Messungen wurden mit einem Stechzirkel in der Flüssigkeit vorgenommen. Den beobachteten Quellungsverlauf lassen die Meßwerte der folgenden Tabelle erkennen.

Tabelle 12. *Gelatine in Heteroauxinlösungen verschiedener Konzentrationen.* 6. 5. 51. Ausgangslänge der Streifen 30 mm; die Zahlen geben die Längenzunahme in Millimeter an.

HA.-Konzentration	pH	Temperatur			
		17°		22°	
		4 Std	24 Std	4 Std	24 Std
10^{-3}	3,7	17	23	23	32[1]
10^{-4}	4,1	5	6	5	7
10^{-5}	5,1	7	8	15	16
10^{-6}	6,0	8	9	14	18
10^{-7}	6,2	8	12	16	19
Aqua dest.	6,4	8	8	15	18

[1] Beginnende Peptisation!

In der HA.-Konzentration 10^{-3} erfolgt die stärkste Quellung der Gelatine. 10^{-4} hingegen verursacht ein ausgesprochenes Quellungsminimum, von dem aus, über die Konzentrationen 10^{-5} und 10^{-6} nach 10^{-7} ein Quellungsanstieg zu erkennen ist. Der Wert der Kontrolle fügt sich etwa zwischen HA. 10^{-5} und 10^{-6} ein.

Vergleichen wir nun die hier erhaltenen Werte mit denen der Tabelle 1 (Deplasmolyse mit HA.-Zusatz), so ergibt sich folgendes:

Völlig übereinstimmend mit der steigenden Wasserpermeabilität des *Rhoeo*-Protoplasten ist eine stärker werdende Quellung der Gelatine in HA. 10^{-5} nach 10^{-7} zu beobachten. HA. 10^{-3} verursacht bei Gelatine stärkste Hydratation, die, keinesfalls temperaturbedingt, manchmal bis zur völligen Auflösung geführt hat. Der entsprechende Vorgang war auch beim *Rhoeo*-Protoplasten zu beobachten. HA. 10^{-4} hat im Deplasmolyseversuch teils Dauerplasmolyse, teils ein sehr langsames Zurückgehen des Protoplasten zur Folge. In der Arbeit von v. GUTTENBERG und BEYTHIEN wurden 2 Erklärungsmöglichkeiten für dieses Verhalten herangezogen. Entweder wird der Plasmaschlauch stark impermeabel, so daß die osmotische Saugung des Zellsaftes im Laufe der Ausdehnung zu schwach wird Wasser einzusaugen, oder der Protoplast erfährt eine Schädigung, derzufolge osmotische Inhaltsstoffe austreten, so daß vorzeitige Isotonie eintritt. v. GUTTENBERG-BEYTHIEN ent-

schieden sich für die erste Möglichkeit. Nach den Ergebnissen der Quellungsversuche glauben wir eine weitere Bestätigung dafür zu haben, daß in HA. 10^{-4} der verdichtete, wenig gequollene Protoplast weitgehend impermeabel für Wasser wird. Auf der anderen Seite ist nach den Modellversuchen nicht daran zu zweifeln, daß die ansteigend erhöhte Wasserpermeabilität im Konzentrationsbereich 10^{-5} bis 10^{-7} auf einer durch das HA. bedingten Plasmaquellung beruht. Auch wird man schließen dürfen, daß die β-Indolyl-3-essigsäure die Eiweißkomponente des Protoplasmas beeinflußt, da in der Gelatine andere Substanzen kaum in Frage kommen.

Weitere Modellversuche mit verfeinerter Methodik laufen derzeit in unserem Institut um einen genaueren Einblick in die Zusammenhänge von Quellung, Viskosität und Permeabilität unter HA.-Einwirkung zu gewinnen. Mit ihrer Veröffentlichung soll eine eingehende Diskussion der bisherigen Ergebnisse verbunden werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Aus den vorliegenden Ergebnissen kann folgender Schluß gezogen werden:

1. Die starke Erhöhung der Wasserpermeabilität des Protoplasten durch Heteroauxin — besonders in den Konzentrationen 10^{-6} und 10^{-7} — ist eine spezifische Wirkung dieses Stoffes, denn sie ist vom p_H-Wert weitgehend unabhängig.

2. Die spezifische Wirkung des HA. 10^{-3} (Plasmazerstörung) stellt keinen p_H-Effekt dar, ist vielmehr auch spezifisch.

3. Die Wasserpermeabilität des Protoplasten unseres Objektes erreicht in Säure- und Pufferversuchen im p_H-Bereich 5,4—5,8 ein Maximum.

4. Wir bestätigen damit die Eingipfeligkeit der von Brauner und Seemann gefundenen Wasserpermeabilitätskurve. Gleiche p_H-Bereiche wirkten in unseren Plasmolyse- und Deplasmolyseversuchen gleichartig beschleunigend.

5. Die zweigipfelige Kurve in der Arbeit von Pohl ist anderer Art. Pohl differenzierte nämlich nur den Wirkungsbereich von HA. 10^{-7} genauer, während wir von 10^{-3} g/cm³ bis 10^{-7} g/cm³ untersuchten.

6. Auch die zerstörende und in 10^{-6} fördernde Wirkung der Askorbinsäure ist nicht p_H-bedingt, sondern spezifisch.

7. Die Temperatur hat auf die Deplasmolysezeit weitgehenden Einfluß. Bei $+2^0$ C werden die Protoplasten zerstört, $+10^0$ und $+16^0$ hemmen in abnehmendem Maße, bei etwa 25^0 ist das Optimum — die kürzeste Deplasmolysezeit — erreicht.

8. Gelatine zeigt im Quellungsversuch in HA.-Lösungen einen charakteristischen Verlauf der Quellungsintensität. Während HA. 10^{-3} zur Auflösung führen kann, bewirkt 10^{-4} geringste Quellung. Von HA. 10^{-5} nach 10^{-7} erfolgt ein Quellungsanstieg.

9. Parallel zur Quellungsintensität der Gelatine verläuft bei *Rhoeo discolor* der Grad der Protoplastenpermeabilität für Wasser. Danach ist anzunehmen, daß die ansteigende Wasserpermeabilität in HA. 10^{-5} bis 10^{-7} auf erhöhter Plasmaquellung beruht. Die Dauerplasmolyse in HA. 10^{-4} dürfte auf starke Entquellung, die Zerstörung des Protoplasmas in HA. 10^{-3} auf Peptisation des Plasmas zurückzuführen sein.

Literatur.

Brauner, L., u. M.: Rev. Fak. Sci. Istambul, Ser. B 8 (1943). — Derry, B. H. E.: Protoplasma (Berl.) 8 (1930). — Guttenberg, H. v.: Fortschr. Bot. 12 (1949). — Guttenberg, H. v., u. A. Beythien: Planta (Berl.) 40 (1951). — Kaczmarek, A.: Protoplasma (Berl.) 6 (1929). — Pfeiffer, H.: Protoplasma (Berl.) 14 (1932). — Pohl, R.: Planta (Berl.) 36 (1949). — Seemann, F.: Protoplasma (Berl.) 39 (1950). — Strugger, S.: Jb. Bot. 79 (1934).

Prof. Dr. H. v. Guttenberg, (3a) Rostock, Doberanerstr. 143,
Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 40, S. 443—460 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz.

DIE EMBRYOENTWICKLUNG BEI *OTTELIA ALISMOIDES* UND DAS PROBLEM DES TERMINALEN MONOKOTYLEN-KEIMBLATTS.

Von

BARBARA HACCIUS.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Dezember 1951.)

Einleitung.

Über die Vertreter der Helobiae gibt es eine beträchtliche Anzahl embryologischer Untersuchungen, was damit zusammenhängt, daß man für die vermutete systematisch-phylogenetische Schlüsselstellung dieser Gruppe in embryologischen Tatsachen eine Bestätigung suchte. Die Zahl verringert sich allerdings, wenn man den Begriff „Embryologie" enger faßt und wie neuerdings auch JOHANSEN (21) in seiner „Plant Embryology" lediglich die Lehre von der eigentlichen Embryobildung, also der Weiterentwicklung der Zygote darunter versteht. Aber auch die übrigbleibenden, die Embryoentwicklung der Helobiae betreffenden Arbeiten geben zumeist kein vollständiges Bild, sondern das überwiegende oder fast ausschließliche Interesse gilt den frühen Entwicklungsstadien, während die Vorgänge der mit der Organdifferenzierung einsetzenden Reife des Embryos besonders in neuerer Zeit vielfach vernachlässigt wurden. So führten die klassischen Untersuchungen von HANSTEIN (16), FAMINTZIN (12), SCHAFFNER (33 und 34) und SOUÈGES (39) dazu, daß in den gebräuchlichen Lehr- und Handbüchern der *Alisma*- bzw. *Sagittaria*-Typ der Embryoentwicklung als typisch für die Monokotylen überhaupt geschildert wird.

Für die Organbildung des *Sagittaria*-Embryos ist die *seitliche Entwicklung des Sproßvegetationspunktes und der von vornherein terminale Kotyledo* charakteristisch. Wenn nun bei verwandten Pflanzen die Teilungsvorgänge im Proembryo[1] mit denjenigen bei *Sagittaria* übereinstimmend gefunden wurden, dann nahm man häufig auch die gleichen Organdifferenzierungsvorgänge als gegeben an. Dieser durchaus nicht zwingende Schluß ist, wie unten noch näher ausgeführt werden wird, gezogen worden, obwohl CAMPBELL (5) in seiner bekannten und viel zitierten Studie über den *Zannichellia*-Embryo ein Beispiel analysiert

[1] Über den Begriff des Proembryos vergleiche man SCHNARF (35, S. 395). SOUÈGES, dem wir hierin folgen, versteht darunter den aus der Zygote sich entwickelnden Embryonalkörper bis zum Beginn der Organdifferenzierung.

hat, bei dem *Kotyledo und Sproßvegetationspunkt nebeneinander aus dem Endsegment des Proembryos* hervorgehen.

Die Vermutung, daß *Zannichellia* nicht der einzige Fall einer vom *Sagittaria*-Typ abweichenden Organbildung des Embryos bei den Helobiae sei, gab den Anstoß zu der vorliegenden Untersuchung. Eine eingehende Darstellung der Embryologie von *Ottelia alismoides* und eine vergleichende Zusammenfassung der derzeitigen Kenntnisse über die Embryo-Morphologie der Helobiae sollen dabei die Grundlagen liefern für eine Diskussion des Problems der Terminalität des Monokotylen-Kotyledos.

1. Die Embryoentwicklung von *Ottelia alismoides* (L.) Pers.

Die Früchte wurden mit JUELS Gemisch oder mit Propionsäure-Alkohol fixiert, nach den üblichen Methoden geschnitten und mit Hämatoxylin nach DELAFIELD gefärbt, wobei sich die unter Mikroskopbeobachtung durchgeführte Differenzierung mit Säure-Alkohol als entscheidend für den Erfolg erwies.

Die Abbildungen wurden mit der Zeicheneinrichtung eines Panphot-Gerätes hergestellt. Zur Kennzeichnung der Embryosegmente wurden die von SOUÈGES eingeführten Benennungen verwandt, da sie sich in der modernen einschlägigen Literatur allgemein durchgesetzt haben. Weiterhin bedeuten: Co = Kotyledo, f_1 und f_2 = 1. und 2. Blatt der Plumula und V = Sproßvegetationspunkt. Im Gegensatz zu einigen neueren Werken (z. B. MAHESHWARI 26), aber ebenfalls SOUÈGES folgend, wird der Embryo zur Abbildung und Beschreibung stets so orientiert, daß das spätere Radikularende nach unten weist. *Wenn also von basalen Embryoteilen gesprochen wird, dann ist die am Mikropylarpol gelegene Zellgruppe gemeint, während unter dem apikalen bzw. terminalen Segment das entgegengesetzte Ende zu verstehen ist.*

Die meines Wissens einzigen Angaben über die Embryoentwicklung bei *Ottelia alismoides* stammen von MURTHY (30), der allerdings nur erwähnt, daß die Teilungsvorgänge dem *Sagittaria*-Typ entsprechend verlaufen und daß der voll entwickelte Keimling einen *terminalen* Kotyledo und eine in einer seitlichen Vertiefung liegende Sproßspitze besitze. Die *Ottelia* betreffenden Untersuchungen MAHESHWARIS (25 und 27) beschäftigen sich nicht mit dem Embryo.

a) *Erste Teilungen bis zum Beginn der Organdifferenzierung.*

Der Verlauf der ersten Teilungswände im Proembryo zeigt nichts Besonderes. Eine Querwand teilt die Zygote in eine kleinere Terminal- und eine größere Basalzelle (*ca* und *cb* in Abb. 1 I). Wie bei allen bisher untersuchten Vertretern der Helobiae finden in der Basalzelle keine weiteren Teilungen mehr statt, sondern sie wächst zu einer stark vakuolisierten Riesenzelle heran, die noch am fast reifen Embryo sichtbar ist (Abb. 7 I und 8) und schließlich kollabiert.

In der Terminalzelle folgen nun die gleichen Teilungsschritte, die beim Fehlen einer aus dem Teilungsgeschehen ausscheidenden Riesenbasalzelle in der Zygote stattfinden und zum sog. Tetradenstadium

führen[1]. So verläuft die 2. Wand (zwischen *cc* und *cd* in Abb. 1 II) stets quer, höchstens etwas schräg, aber nie längs. Die Tetrade entsteht durch die rasch aufeinanderfolgende Ausbildung einer Querwand in *cd* und einer Längswand in *cc* (Abb. 1 III). Nicht selten sieht man aber auch eine der Basalzelle aufsitzende viergliedrige Zellreihe noch ohne Longitudinalteilung (Abb. 1 IV). Es handelt sich wahrscheinlich um

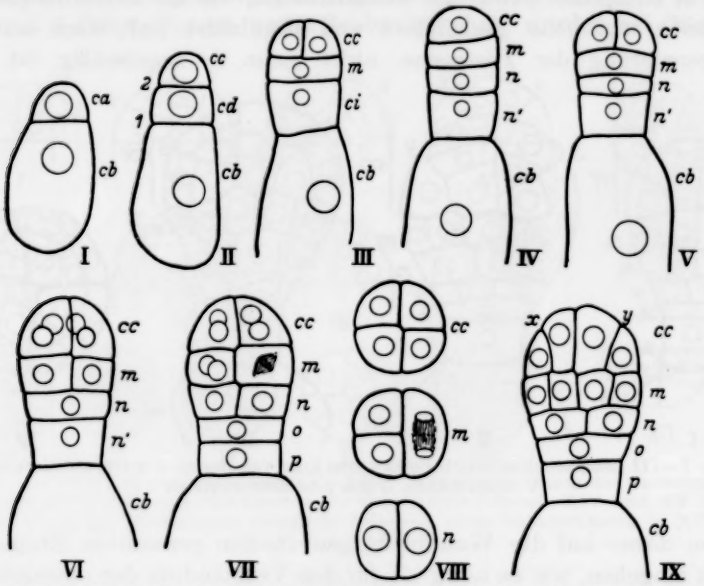


Abb. 1. *Ottelia alismoides*. I—VII und IX Längsschnitte der ersten Embryonalstadien; VIII Querschnitte durch die oberen 3 Segmente eines Embryos auf derselben Entwicklungsstufe wie in VII.

die zeitliche Vorwegnahme der sonst der Tetradenbildung unmittelbar folgenden Teilung von *ci*, der basalen Tochterzelle von *cd* (Abb. 1 V).

Auch die nächsten Teilungsschritte variieren häufig in der zeitlichen Aufeinanderfolge, seltener aber im Ergebnis. Durch je 1 weitere Längswand in den beiden Endzellen kommt es zum sog. „Quadrantenstadium" der *cc*-Etage (Abb. 1 VI—VIII). Etwa gleichzeitig erscheint in der Mittelzelle (*m*) der Tetrade die 1. Längswand, der später ebenfalls 2 weitere folgen. Ist in der *m*-Etage die Quadrantenbildung abgeschlossen, dann ist auch meist in *n*, der oberen Tochterzelle von *ci*, die 1. Längswand festzustellen, während durch eine nochmalige Querteilung aus *n'*, der

[1] Dem Vorgehen von SOUÈGES folgend, der auf diese Tatsache bei *Sagittaria* aufmerksam gemacht hat, wird im folgenden bei der Zählung der Zellen bzw. Zellagen oder Etagen des Embryos vom Dreizellenstadium an die Basalzelle nicht mehr berücksichtigt.

Schwesterzelle von *n*, die beiden basalen Zellen *o* und *p* hervorgehen (Abb. 1 VII). Damit hat sich die Zahl der Etagen auf 5 erhöht. Der Embryo ist auf diesem Stadium etwa 3—4 Tage alt und mißt 0,05 mm.

Es folgt nun die Ausgestaltung des Keimlings zu einem mehrzelligen etwa birnförmigen Gebilde. Die weitere Aufgliederung in den Etagen *p* bis *m* entspricht etwa den Verhältnissen, wie sie SOUÈGES (39) von *Sagittaria sagittifolia* geschildert und abgebildet hat, wenn auch die Differenzierung der Histogene nicht ganz so regelmäßig ist. Wir

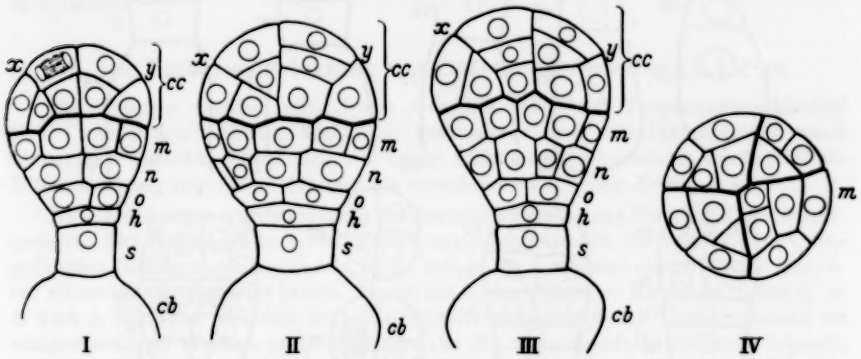


Abb. 2. I—III Längsschnitte durch Embryonen kurz vor Beginn der Organdifferenzierung; IV Querschnitt durch das Mittelsegment.

werden daher auf die Wandbildungen in den genannten Etagen nur soweit eingehen, wie es nötig ist für das Verständnis der abweichenden Aufteilung des Endsegments.

Die *Etagen m und n* verhalten sich übereinstimmend, wobei *m* auch weiterhin stets einige Teilungsschritte vor *n* voraus ist. Meist, aber nicht immer, beginnt die Unterteilung jedes Quandranten mit einer periklinalen Wand, der in der Innenzelle weitere Teilungen folgen. Im Längsschnitt erscheinen zunächst 4 (Abb. 2 I), später 5—7 Zellen (II und III), die genaueren Zusammenhänge sind nur auf Querschnitten (Abb. 2 IV) erkennbar. Schließlich treten jeweils mit den Dermatogenzellen beginnend auch Transversalwände auf (Abb. 5 I und III), durch die die betreffenden Segmente zunächst zwei- und durch weitere Querteilungen mehrschichtig werden.

Von den *Abkömmlingen von n'* geht *o* ebenfalls, wenn auch viel später als *m* und *n*, zur Quadrantenbildung über, und die resultierenden 4 Zellen teilen sich durch meist oberflächenparallele, oft aber auch irgendwie schräg verlaufende Wände, so daß im Querschnitt 8 und im etwa medianen Längsschnitt 3—4 Zellen erscheinen (Abb. 5 I). Aus dem Segment *o* gehen die Initialen der Wurzelspitzenhistogene hervor.

Die *basale Zelle p* des 5stöckigen Embryos (Abb. 1 VII) macht etwa gleichzeitig mit der Quadrantenbildung in *o* eine nochmalige Querteilung durch (Abb. 2 I). Ihrer oberen Tochterzelle *h* entstammen die peripheren Schichten der Wurzelhaube, es handelt sich also um das äußerste zum eigentlichen Embryo gehörende Segment. Die Abkömmlinge von *s*, der Schwesterzelle von *h*, und die basale Riesenzelle bilden zusammen den Suspensor. Im Gegensatz zu *Sagittaria*, wo SOUÈGES maximal 5 Querteilungen von *s* beobachtet hat, wurden bei *Ottelia* nie

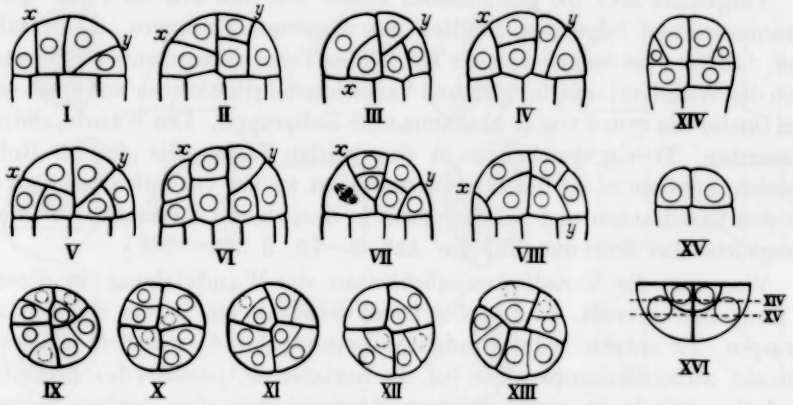


Abb. 3. I—VIII Längsschnitte und IX—XIII Querschnitte durch das Endsegment, die verschiedenen Aufteilungsmöglichkeiten der Quadranten zeigend; XIV und XV 2 Längsschnitte durch das Endsegment desselben Embryos, deren Schnittführung in XVI schematisch erläutert wird.

mehr als 2 den Embryo mit der Basalzelle verbindende Elemente gefunden (Abb. 5 I und III).

b) *Aufgliederung des Terminalsegments und Bildung des Kotyledos.*

Abweichend von den von SOUÈGES für *Sagittaria sagittifolia* geschilderten Vorgängen ist bei *Ottelia* das Verhalten des Terminalsegments. Es bedarf daher einer eingehenden Analyse, wobei zum Vergleich auch die Verhältnisse bei *Sagittaria* herangezogen werden müssen.

Wir gehen aus vom Quadrantenstadium des Endsegments, einer Gruppe von 4 Zellen (Abb. 1 VII und VIII). Bei *Sagittaria* bilden diese zunächst Transversalwände aus, so daß 8 Zellen resultieren in 2 Etagen, die SOUÈGES mit e und e′ bezeichnet. Eine solche „Oktantenbildung" war in typischer Form bei *Ottelia* in keinem Fall zu beobachten. Die Schnitte (Abb. 2 und 3) zeigten vielmehr die größten Unterschiede in der Lage der ersten Teilungen in den Quadranten. Am häufigsten wurde die Ansicht gefunden, die in Abb. 1 IX dargestellt ist, wo die beiden Teilungswände (*x* und *y*) mehr oder weniger schräg von der

Zellaußenwand bis zur Grenze nach Segment *m* hin verlaufen. Manchmal, und dann nicht in allen Quadranten, erstreckt sich die betreffende Wand auch quer durch die Zelle, nicht an deren Basis, sondern an der mit dem Nachbarquadranten gemeinsamen Seitenwand ansitzend (Abb. 3, *x* in II, V und VII, *y* in III, V und VI). Es ist dann das gleiche Bild, wie es nach SOUÈGES bei *Sagittaria* immer und in allen Quadranten gefunden wird. Gelegentlich treten auch periklinale Wände auf (Abb. 3, *x* in III).

Vergleicht man die gewonnenen Bilder mit den auf die erste Quadrantenteilung folgenden Stadien des *Sagittaria*-Embryos, dann fällt auf, daß bei *Sagittaria* der obere Teil (e) des Terminalsegments (*cc*) bezüglich des Wandverlaufs die gleichen Variationsmöglichkeiten aufweist wie bei *Ottelia* die ganze von *cc* abstammende Zellgruppe. Die Wände, die im gesamten Teilungsgeschehen in den beiden Fällen die gleiche Rolle spielen, gehören nicht derselben Generation an, sie verlaufen bei *Ottelia* in den Quadranten und bei *Sagittaria* in den oberen 4 Oktanten[1]. [Man vergleiche bei SOUÈGES (39) die Abb. 9—15, S. 361—363.]

Was nun die Variationsmöglichkeiten der Wandziehung in diesen 4 Endzellen betrifft, so hat SOUÈGES versucht, sie in ein System zu bringen. Er unterscheidet 4 mögliche Lagen (Abb. 4), nämlich die periklinale, außenflächenparallele (*a*), die horizontale, parallel der Basis (*b*) und 2 vertikale in etwa gleichem Abstand von den beiden Seitenwänden des Oktanten (*c* und *d*). Zu den letzteren rechnet er, wie aus den Abbildungen hervorgeht, auch Wandpositionen, die im Längsschnitt als mehr oder weniger schräg von der Peripherie zur Basis ziehende Linien erscheinen und deren Querschnittsbilder dann mit dem einer nach Schema Abb 4e verlaufenden Wand übereinstimmen müßten.

Überträgt man die SOUÈGESsche Auffassung auf die Unterteilung im Endsegment des *Ottelia*-Embryos, dann wäre hier eine Wandorientierung nach Schema Abb. 4e am häufigsten. Beim Durchmustern einer größeren Anzahl von Längs- und Querschnitten fällt jedoch auf, daß periklinale Zellgrenzen in den Quadranten bei den Querschnitten relativ häufiger gefunden werden als bei den Längsschnitten (Abb. 3). Ferner sieht man manchmal, daß die beiden Zellgrenzen innerhalb der Quadranten eines etwas medianen Längsschnittes (Abb. 3 XIV) verschwinden, wenn der Schnitt in genügendem Abstand von der Achse getroffen hat (Abb. 3 XV), was, wie Schema Abb. 3 XVI zeigt, nur bei einem im Querschnitt periklinalen Wandverlauf möglich ist.

[1] Hierzu sei bemerkt, daß die Bezeichnungen „Quadranten" und „Oktanten" je nachdem, ob vorher eine Querteilung des Endsegments stattgefunden hat oder nicht, insofern mißverständlich sind, als es sich mathematisch gesehen bei den 4 Endzellen des Embryos *stets* um angenäherte Kugeloktanten handelt. Wir gebrauchen die Ausdrücke hier nur in dem in der embryologischen Literatur üblichen Sinn.

Die Erklärung gibt die theoretische Überlegung, daß eine schräg von oben nach unten ziehende Linie im Längsschnitt auch bei einer Wandposition entsteht, die SOUÈGES bei *Sagittaria* nicht in Erwägung gezogen hat und die in Abb. 4f dargestellt ist. Das Längsschnittbild gleicht völlig dem einer Wand nach dem Muster Abb. 4e, aber im Querschnitt wird der Unterschied deutlich. Von einer Periklinalwand (Abb. 4a) ist diese Lage in einer Querschnittsfolge dadurch zu unterscheiden, daß beim an der Spitze beginnenden Durchmustern der Schnitte

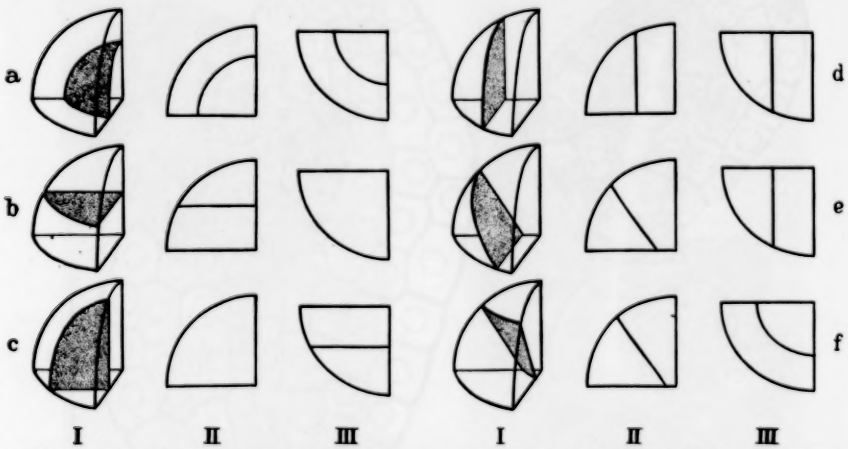


Abb. 4. Schematische Darstellung der möglichen Positionen der ersten Teilungswand eines Quadranten (a—f), jeweils stereometrisch (I), im Längsschnitt (II) und im Querschnitt (III) gezeichnet.

im einen Fall zuerst der Kern der äußeren Zelle sichtbar wird, im anderen der der inneren (Abb. 3 IX—XIII).

Zusammenfassend wäre festzustellen, daß *der bei Ottelia am häufigsten vorkommende Verlauf der ersten Teilungswand eines Quadranten mit keiner der von* SOUÈGES bei *Sagittaria konstruierten Positionen übereinstimmt.*

Die Abb. 2 und 3 unterrichten auch über die *weitere Aufteilung des Endsegments.* Es folgen nun, soweit nicht schon vorhanden, in erster Linie außenflächenparallele Wände. Eine bevorzugte Stelle des Beginns dieser Teilungen ist nicht festzustellen, manchmal ist die erste Periklinalwand in einer Innen- manchmal in einer Außenzelle (z. B. Abb. 3 II und V). Man könnte glauben, daß es sich hierbei um die bekannte Dermatogenabscheidung (Schälteilung nach HANSTEIN) handelt. Dazu wäre aber zu fordern, daß in der peripherischen Zellage keine weiteren Periklinalteilungen mehr vorkommen. Das ist aber, wie die Längsschnitte älterer Embryonen bezeugen, durchaus nicht der Fall (Abb. 5 I und 6 I). Es bildet sich also im Gegensatz zu den übrigen Teilen des

Embryos beim Endsegment die eigentliche dermatogene Schicht relativ spät aus, was, wie wir noch sehen werden, mit den ersten Wachstumsvorgängen im Kotyledo zusammenhängt.

Der Embryo ist jetzt 5—6 Tage alt und mißt etwa 0,1 mm. Im Mittelsegment *m* werden die obenerwähnten ersten Transversalteilungen

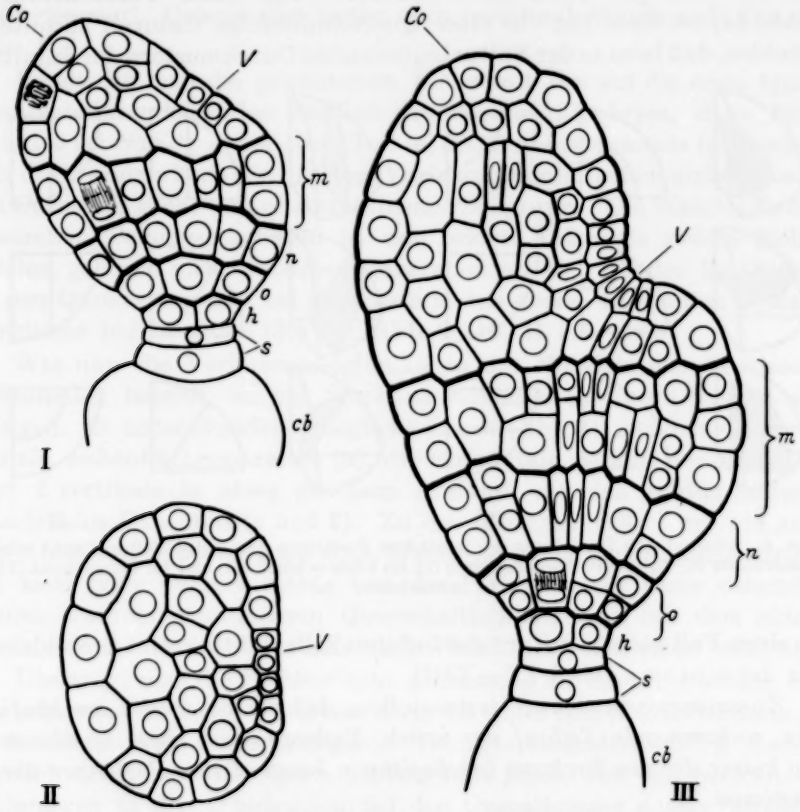


Abb. 5. I und II Längs- und Querschnitt eines etwa 5 Tage alten Embryos; III Längsschnitt durch ein etwas älteres Stadium.

in den Außenzellen sichtbar, und gleichzeitig beginnt im Endabschnitt das assymmetrische Wachstum, durch das *die Keimblattanlage* sich vom Gebiet der zukünftigen Sproßspitze absetzt (Abb. 5 I und 6 I). Medianen Längsschnitten ist zu entnehmen, daß der Kotyledo (*Co*) zunächst durch eine einseitig gesteigerte periklinale Teilungstätigkeit wächst, die auch die äußerste Zellage miteinbezieht[1]. Seine Hauptwachstumsrichtung

[1] Epidermales Spitzenwachstum kommt nach THIELKE (45) auch an den Primordien der Laubblätter gewisser Gräser vor. Die Anlagen der Primärblätter von *Ottelia* (Abb. 7 II) zeigen dagegen eine von vornherein gut individualisierte Epidermis.

liegt nicht in der Fortsetzung der Hauptachse des Keimlings, sondern divergiert mit dieser um etwa 30—40°. Es hängt dies damit zusammen, daß die Anlage des Sproßvegetationspunktes (*V*) *nicht unter, sondern neben dem Keimblattprimordium* in der Ebene von dessen größter Längserstreckung (Mediane) gelegen ist. In diesem zunächst nur wenige Zellen umfassenden Gebiet verlangsamt sich die Teilungstätigkeit, vor allem fehlen die für die Kotyledonarregion so charakteristischen Peri-

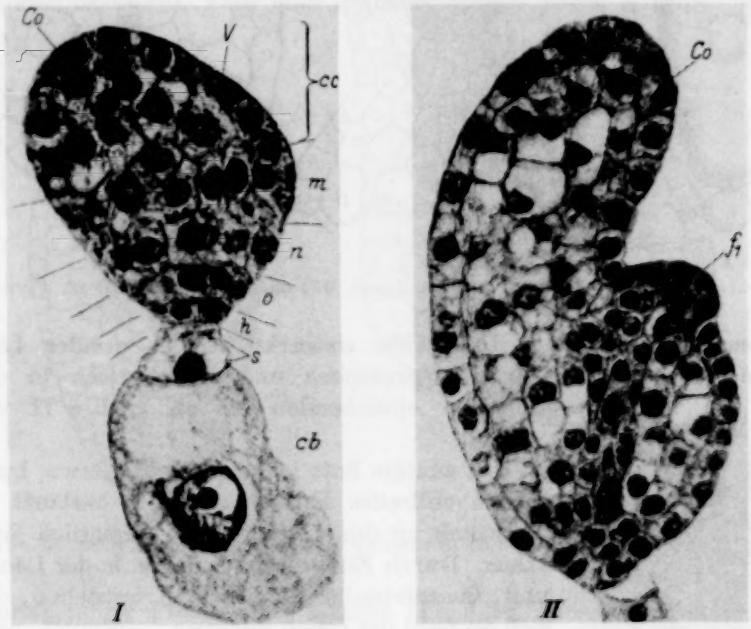
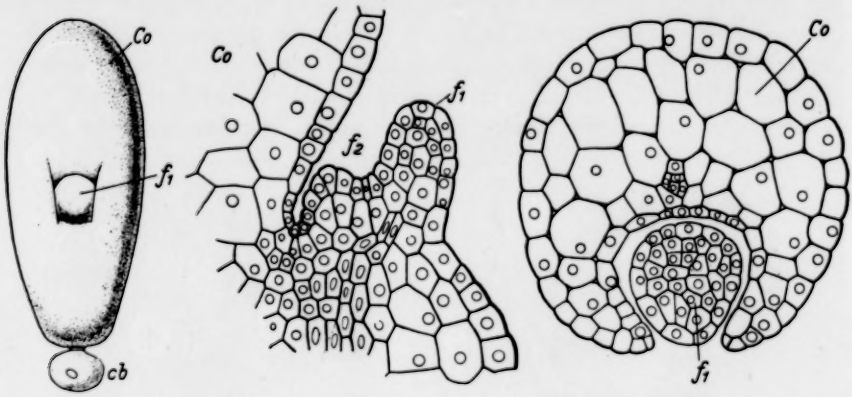


Abb. 6. Längsschnitte eines 5 (I) und eines 7 (II) Tage alten Embryos.

klinalteilungen ganz. Es kann kein Zweifel bestehen, daß Kotyledo und Sproßspitze nebeneinander und beide aus den Zellen des Terminalsegments ausdifferenziert werden, da auf diesem Stadium die obere Grenze der Mitteletage *m* noch einwandfrei feststellbar ist.

Die folgenden Entwicklungsstadien (Abb. 5 III und Abb. 6 II) sind charakterisiert durch endgültige Individualisierung des Dermatogens bei Übergang zu vorwiegendem Streckungswachstum auf der Kotyledonarseite und durch neu einsetzende lebhafte Teilungstätigkeit ohne nachfolgende Zellstreckung am Vegetationspunkt. Infolgedessen wird das Sproßende vom Kotyledo überwölbt, dessen Längsachse sich dadurch in die Richtung der Keimlingsachse einstellt. Querschnitte (Abb. 5 II, Abb. 7 III und Abb. 9 II) zeigen, wie die Sproßspitze allmählich von der Keimblattbasis umwachsen wird. Wenn der Embryo eine Länge von etwa 0,25 mm erreicht hat (Abb. 6 II), sind die Segmentgrenzen infolge

der Ausdifferenzierung des Prokambialstranges nicht mehr klar erkennbar. Das an seinen langgestreckten, embryonalbleibenden Zellen



I II III

Abb. 7. 8 Tage alter Embryo: total (I), Längs- (II) und Querschnitt (III) der Plumula.

erkennbare zukünftige Leitgewebe erstreckt sich in gerader Linie vom Radikularende bis zur Sproßspitze und zweigt einen in den Kotyledo einziehenden Ast ab (Abb. 6 II und Abb. 8).

Abb. 8. Längsschnitt eines 8 Tage alten Embryos.

Die weitere Entwicklung bis zum etwa 1 mm langen vollreifen Embryo (Abb. 9) verläuft im Verhältnis zu den ersten Stadien wesentlich langsamer. Durch Zählung der Zellagen in der Längs- und Quererstreckung kann man feststellen, daß sich die Zahl der Zellen nur etwa verdoppelt, während der Embryo sich um das 3fache vergrößert. Man kann daraus schließen, daß die weitere Ausgestaltung zum großen Teil auf Streckungswachstum beruht. Das gilt natürlich nicht vom Vegetationspunkt, dessen Kleinzelligkeit lebhafte meristematische Tätigkeit anzeigt. Er bildet zunächst eine Aufwölbung, die das Primordium des ersten Blattes darstellt (f_1 in Abb. 6 II). An dessen dem Kotyledo zugewendeter Basis entwickelt sich sogleich eine zweite (f_2 in Abb. 7 II und Abb. 8), die man als den eigentlichen Vegetationskegel ansprechen könnte. Es handelt sich aber um die Anlage des zweiten Blattes, während der Vegetationspunkt selbst, wie häufig bei Monokotylen, zunächst nicht als gesonderte Zellgruppe erscheint. Jede neue Anlage verbraucht das gesamte meristematische Zellmaterial der Sproßspitze und

wird erst durch die nächste quasi regenerativ sich entwickelnde zur Seite gedrängt. (Näheres darüber siehe TROLL 46, S. 2537 und 47, S. 305.) Die Primordien entstehen zunächst in disticher Anordnung, also nicht übereinstimmend mit *Sagittaria*, *Najas*, *Stratiotes* und anderen Vertretern der Helobiae, bei denen, wie ich an anderer Stelle näher ausgeführt habe (15), das erste und zweite Blatt untereinander und mit dem Kotyledo um etwa 120° divergieren. Später geht die Distichie in eine Spirodistichie über, wozu man die Abbildungen zweier Knospenquer-

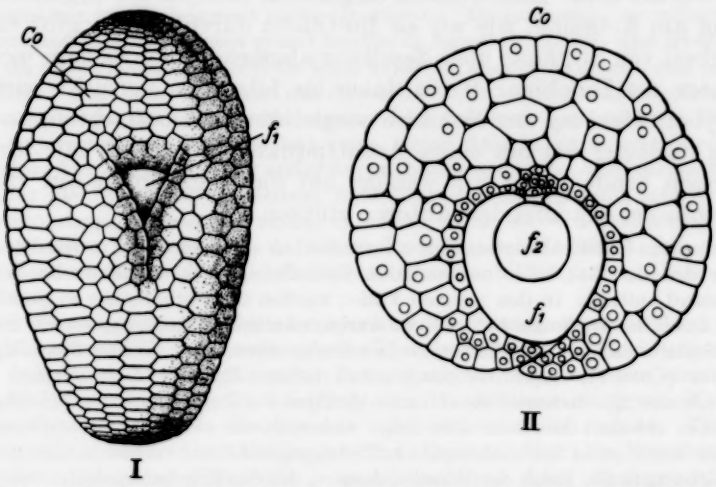


Abb. 9. Reifer Embryo: total (I) und Querschnitt auf der Höhe der Plumula (II).

schnitte junger Pflanzen bei HIRMER (17, S. 20, Abb. 25 und 26) vergleiche.

Abschließend noch eine kurze Bemerkung zur Umscheidung der Sproßspitze durch den Kotyledo. Auf einer Entwicklungsstufe, auf der die Anlage des ersten Blattes schon voll ausdifferenziert ist (Abb. 7 und 8), findet man die von der Keimblattbasis um die Sproßspitze herum gebildete Höhlung nach vorne zu noch völlig offen. Erst später wachsen von beiden Seiten her 2 vorwiegend von der Epidermis gebildete Flügel über die Öffnung hinweg (Abb. 9 I). Es handelt sich also um mindestens zeitlich sekundäre Bildungen, deren Wachstumsrichtung durch die von derjenigen der Umgebung abweichende Anordnung der Zellen registriert wird. Die Frage, ob es sich in diesen und in ähnlichen Fällen um echte Marginalstrukturen der Kotyledonarscheide handelt oder um sekundäre Randbildungen, wie sie der Embryo verschiedener Gräser in so ausgeprägter Form aufweist, bedarf noch einer Klärung.

2. Vergleichende Betrachtung der Embryoentwicklung bei den Helobiae.

CAMPBELL (5) hat schon 1898 anläßlich seiner Feststellung eines nichtterminalen Kotyledos bei *Zannichellia palustris* die Vermutung geäußert, dieser Typ sei „probably more common than has been supposed". Diese Anregung wurde aber in neueren embryologischen Untersuchungen nirgends aufgegriffen. Die Terminalität des Keimblattes erschien vielmehr so selbstverständlich, daß die zur Entscheidung dieser Frage wesentlichen Stadien häufig überhaupt nicht näher untersucht worden sind. Eine wirklich eingehende Analyse der Organdifferenzierung am Keimling, wie wir sie für *Ottelia* durchführten, gibt es, von der Arbeit von SOUÈGES über *Sagittaria* abgesehen, von keinem weiteren Vertreter der Helobiae. Wenn daher im folgenden versucht wird, die Embryoentwicklung der Helobiae vergleichend zu betrachten, so kann es sich vorläufig erst um einige Ansatzpunkte, ja vielfach nur um Vermutungen handeln, die sich weniger auf die Angaben als auf die Abbildungen der betreffenden Autoren stützen.

Die ersten Entwicklungsstadien unterscheiden sich vor allem in der Anzahl der Glieder des der Basalzelle aufsitzenden Zellfadens, in dessen Endzelle die erste Längswand auftritt. In den meisten Fällen werden die Verhältnisse so geschildert, wie sie auch bei *Ottelia* zu beobachten waren, nämlich mit einer gewissen Schwankungsbreite zwischen 3—5 Zellen, so bei *Elodea canadensis* (WYLIE 50), *Sagittaria lancifolia* (COOK 7), *Sagittaria guayanensis* (JOHRI 23) und *Limnophyton obtusifolium* (JOHRI 22). In seiner detaillierten Analyse der Embryobildung bei *Sagittaria sagittifolia* erwähnt SOUÈGES allerdings nichts davon. Wir deuteten dieses Variieren als auch sonst im embryonalen Teilungsgeschehen vorkommende zeitliche Verschiebung in der Folge der Wandbildungen, die das Ergebnis jedoch nicht beeinflußt.

In den genannten Beispielen handelt es sich durchweg um „gestielte" Embryonen, wie wir sie nennen wollen wegen der zwischen Basalzelle und eigentlichem Embryo vermittelnden Suspensorzellen, die bei den „sitzenden" Keimlingen fehlen. Zu den letzteren gehören *Aponogeton distachyus* und andere *Aponogeton*-Arten (SERGUÉEFF 36, AFZELIUS 1) und *Zostera marina* (HOFMEISTER 18, ROSENBERG 31, DAHLGREN 11). Hier findet die erste Längsteilung schon in der Apikalzelle ca. des Zweizellenstadiums statt, worauf Querteilungen in beiden Tochterzellen folgen. Nach JOHANSEN (21) kommt bei *Zostera* gelegentlich auch die umgekehrte Reihenfolge vor, die als normales Verhalten bei *Ruppia maritima* (GRAVES 14) und *R. rostellata* (WILLE 48 und MURBECK 29) beschrieben wird. Man kann also auch hier von einem Variieren in der Folge der Teilungen bei Vertretern der gleichen Art sowie bei verwandten Arten sprechen. Das in beiden Fällen gleiche Ergebnis sind 4 Zellen in der Anordnung von Kugelquadranten, die von derjenigen einer *T*-förmigen Tetrade typisch verschieden ist. Einen sitzenden Embryo hat nach STENAR (43) auch *Scheuchzeria palustris*.

Aus dem Typ des Vierzellenstadiums läßt sich offensichtlich nicht ohne weiteres auf den Modus der Keimblattdifferenzierung schließen. Aussichtsreicher hierfür dürfte vielleicht der Verlauf der ersten Wände im Terminalsegment sein. Wir stellten fest, daß sich *Ottelia* unter anderem darin von *Sagittaria* unterscheidet, daß eine Oktantenbildung, also eine Aufteilung der Quadranten in die 2 Etagen *l* und *l'* nicht stattfindet. Leider geben die meisten Untersuchungen bezüglich der ersten

Teilungen im Terminalsegment keine oder nur ungenügende Auskunft. CAMPBELL bildet *Ottelia*-ähnliche Ansichten entsprechender Stadien von *Lilaea subulata* (6) und *Najas flexilis* (5) ab, WITMER (49) von *Vallisneria spiralis*, welche aber nicht mit den Angaben von BURR (4) übereinstimmen. Zuverlässige Einzelheiten über diesen Punkt sind nur den Arbeiten von SOUÈGES zu entnehmen, welcher außer *Sagittaria* noch *Potamogeton natans* (41) und *Triglochin maritimum* (42) untersucht hat. Bei *Triglochin* sind, wenigstens bezüglich der Bildung der Sproßspitze aus den Zellen des Mittelsegments, die gleichen Verhältnisse wie bei *Sagittaria* zu konstatieren, nicht aber bei *Potamogeton*, wenn man die Abbildungen mit den entsprechenden Stadien von *Ottelia* vergleicht. SOUÈGES selbst, der auch bei *Potamogeton* grundsätzliche Übereinstimmung mit *Sagittaria* behauptet, kann die abweichenden Aufteilungsmuster im Endsegment nicht ignorieren: „On remarque, cependant, chez le *Potamogeton natans*, un assez grand nombre de formes de construction irrégulière; les lois du développement offrent de toute évidence, chez cette espèce, une certaine instabilité." Nach ihm wären also nur die auch bei *Ottelia* gelegentlich vorkommenden Querteilungen der Quadranten regulär, denn nur dann lassen sich die Etagen *l* und *l'* unterscheiden. SOUÈGES hat einen seiner Ansicht nach irregulären Fall abgebildet (Abb. 15, S. 233), der völlig den am häufigsten zu beobachtenden Bildern bei *Ottelia* gleicht. Auch die weitere Aufteilung des Endsegments spricht gegen die SOUÈGESsche Auffassung, zumal er selbst sogar an den Abbildungen der älteren Stadien, im Gegensatz zu seinem Vorgehen bei *Sagittaria*, das gesamte Endsegment wieder wie vor der behaupteten Oktantenbildung mit *q* (Quadranten) bezeichnet.

Über die Anlegung des Vegetationspunktes bei *Potamogeton* äußert sich SOUÈGES nicht ausdrücklich, da er vollkommene Übereinstimmung mit *Sagittaria* voraussetzt. Auch seine Abbildungen geben keine Auskunft, ausgenommen eine kleine Übersichtsskizze (Abb. 25), die allerdings eine Ausdifferenzierung von Kotyledo und Sproßspitze aus dem Endsegment sehr wahrscheinlich macht. Für eine solche sprechen auch die Abbildungen und Angaben über die Keimlinge von *Potamogeton lucens* bei COOK (8), wenn sie auch von dem Verfasser nicht in diesem Sinne gedeutet werden. Für die sitzenden Embryonen von *Ruppia* hat GRAVES (14) selbst die Vermutung ausgesprochen, daß Kotyledo und Sproßspitze nebeneinander aus der terminalen Zellgruppe hervorgehen, wobei er auf CAMPBELLS Ergebnisse bei *Zannichellia* hinweist.

Eine Nachuntersuchung der Organdifferenzierung wäre auch wünschenswert bei *Najas*, bei welcher CAMPBELL (5) an der Terminalität des Kotyledos festhalten zu müssen glaubt, während SUESSENGUTH (44) neben *Potamogeton*, *Ruppia* und *Zannichellia* auch *Najas* als Beispiele für Monokotyle mit nichtterminalem Kotyledo aufzählt. Auch die Abbildungen des Keimlings von *Vallisneria spiralis* bei WITMER (49) sprechen, was die Entstehung der Sproßspitze betrifft, gegen die Deutung des Autors.

Wenn man auch bei dem derzeitigen Stand der Kenntnisse über die Keimblattgenese am Helobiae-Embryo nur wenig positive Angaben machen kann, so erlaubt unsere Übersicht doch einige allgemeine Feststellungen:

1. Die nichtterminale Entstehung des Kotyledos ist bei den Helobiae sicher verbreiteter, als man bisher annahm.

2. Möglicherweise geht dieser Differenzierungsmodus parallel mit der Ausbildung einer geringeren Anzahl von Etagen im Proembryo, wie sie besonders bei den sitzenden Embryonen gegeben ist, aber auch bei

gestielten im Fehlen der typischen Oktantenbildung zum Ausdruck kommt.

3. Die Suche nach weiteren Fällen nichtterminaler Kotyledonen hat wahrscheinlich bei den Hydrocharitaceen und Potamogetonaceen mit ihren meist gedrungenen, massigen Embryonen mehr Aussichten als bei den langgestreckten Keimlingen etwa der Alismataceen und Butomaceen.

3. Das Problem des terminalen Kotyledos der Monokotylen.

a) Definition des terminalen Kotyledos.

Wir haben im vorangegangenen stillschweigend vorausgesetzt, daß Terminalität nur dann gegeben ist, wenn die gesamte dem Endsegment entstammende Zellgruppe wie bei *Sagittaria* in die Anlage des Kotyledos eingeht, so daß die Sproßspitze lateral, d. h. aus Elementen darunterliegender Etagen ausdifferenziert werden muß. Entscheidend ist also die Abgrenzung des Endsegments. Bei unseren Beispielen genügte es, *das Endsegment als denjenigen Abschnitt des Keimlings zu definieren, der der Zelle entstammt, in welcher die erste Längsteilung stattgefunden hat.* In anderen Fällen reicht diese Bestimmung jedoch nicht aus. Es taucht z. B. die Frage auf, ob bei typischer Queraufteilung des Endsegments in die Etagen l und l' eine Entstehung der Sproßspitze aus dem basalen Teil l' nicht doch auch als lateral angesehen werden muß. Gar nicht anwendbar ist die Definition natürlich bei den sitzenden Embryonen, bei welchen die gesamte Embryoentwicklung mit einer Längsteilung beginnt.

b) Verhältnis zwischen terminaler und lateraler Anlegung des Kotyledos.

Die angedeuteten Definitionsschwierigkeiten lassen die Frage auftauchen: Handelt es sich bei der Terminalität bzw. Lateralität des Kotyledos der Monokotylen überhaupt um eine Alternative, also um Merkmale, zwischen denen keine Übergänge möglich sind? Wir möchten diese Frage verneinen und hierzu mit grundlegenden theoretischen Überlegungen argumentieren, die TROLL (47) durchgeführt hat. TROLL sieht in den Polaritätsverhältnissen des Embryos einen charakteristischen Unterschied zwischen Spermatophyten und Pteridophyten. Während diese unipolare Keime haben, bei denen wohl ein Sproßpol, aber kein diesem diametral gegenüberliegender Wurzelpol entwickelt ist, sind die Spermatophyten-Embryonen durchweg bipolar gebaut, d. h. Sproß- und Wurzelpol bilden die beiden Enden der Hauptachse.

Dieser Feststellung scheinen die Monokotylen mit endständigem Kotyledo zu widersprechen. In Wirklichkeit aber ist die Terminalität nur die Folge einer vorauseilenden Entwicklung des stark geförderten Kotyledos, welcher zu seiner Bildung das gesamte Scheitelgewebe ver-

braucht, so daß die eigentlich terminale Sproßspitze aus einer darunterliegenden Zellgruppe sekundär ergänzt werden muß (HOFMEISTER 19, S. 709; LOTSY 24, S. 620; GOEBEL 13, S. 2052; TROLL 47). Nach SARGANT (32) und TROLL (46, S. 253) haben wir ein Analogon zu diesem Vorgang in der Laubblattanlegung an noch unvollständig erstarkten Achsen vieler Monokotylen, wie z. B. die oben geschilderte Plumula bei *Ottelia* zeigt. Man könnte das Phänomen als eine *Verschiebung der zeiträumlichen Proportionen* bezeichnen.

Für unsere Betrachtung ergibt sich, daß die Terminalität des Monokotylen-Keimblatts nur das Endstadium eines zunehmenden Überwiegens des Kotyledos über die übrigen Teile des Embryos darstellt, daß die terminale Anlegung also mit der typisch lateralen durch Übergänge verbunden sein muß. SUESSENGUTH (44), der meines Wissens als erster auf diese Tatsache aufmerksam gemacht hat, spricht von „schräg terminaler Lage der Plumular-Einsenkung". Künftige Untersuchungen werden sich unter diesem Gesichtspunkt namentlich mit den Fällen zu beschäftigen haben, von denen SOUÈGES (z. B. *Poa annua*, 38) angibt, daß der Sproßvegetationspunkt an der Grenze zwischen End- und Mittelsegment entsteht.

c) Der Wert der embryonalen Teilungsvorgänge für Morphologie und Systematik.

SOUÈGES (40) hat die Verschiedenheit der Teilungsschritte, die zum Vierzellenstadium des Proembryos führen, und den Beitrag, den jede dieser 4 Zellen beim Aufbau des fertigen Keimlings liefert, als Grundlagen für eine Klassifizierung der embryologischen Typen angesehen, der er große Bedeutung für die Pflanzensystematik beimißt. SCHNARF (35) hat unter Verwendung der von SOUÈGES aufgestellten Kriterien eine embryologische Typenaufstellung ausgearbeitet, die, wenn auch unter Vorbehalten, von JOHANSEN (20 und 21) und MAHESHWARI (26) in großen Zügen übernommen wurde. Diese Vorbehalte basieren vor allem auf der Tatsache, daß nachweisbar der Segmentierungsmodus im Proembryo und das weitere Schicksal der 4 Zellen nicht konstant ist, sondern bei nah verwandten Arten wie auch innerhalb derselben Art variiert, wobei es nicht angeht, alle derartigen Fälle mit SOUÈGES als irregulär zu bezeichnen. BORTHWICK (3) und BADHURI (2) haben bei Umbelliferen und Solanaceen die Unzulässigkeit der SOUÈGESschen Verallgemeinerungen nachgewiesen. Wir können dies für die Helobiae nur bestätigen.

Die Zellteilungsfolge im Embryo kann also nur mit Einschränkung und nie als einziges Argument für systematische und morphologische Entscheidungen herangezogen werden[1]. GOEBEL (13, S. 2053) sagt sehr

[1] Man vergleiche auch MAURITZON (28).

treffend: „Nicht die Zellanordnung bedingt die Organbildung, sondern die Organbildung bedingt die Zellanordnung." Dem Sinn nach ähnlich haben sich auch schon COULTER und CHAMBERLAIN (10) geäußert. Die echte Terminalität des Keimblattes vortäuschende „Zellanordnung" ist also nur die Folge einer „Organbildung", die dem Kotyledo wenigstens zeitweise gegenüber der Achse ein absolutes Übergewicht gibt. Dieses wird sich selbstverständlich bei zarten langgestreckten Embryonen mit relativ geringem Durchmesser entschiedener auswirken als bei solchen von massig gedrungener Gestalt.

d) Die Bedeutung des Merkmals der Kotyledoanlegung für Systematik und Phylogenie.

Die Zahl der embryologisch untersuchten Monokotylen reicht nicht aus, um schon bindende Angaben zu machen über das ausschließliche Vorkommen lateraler oder terminaler Kotyledoanlegung in einzelnen Familien. Wenn z. B. auf Grund der Untersuchungen von SOLMS-LAUBACH (37) immer wieder die Commelinaceen und Dioscoreaceen als Monokotylen-Familien mit scheitelbürtigem Sproßvegetationspunkt genannt werden, so kann dies meines Erachtens zunächst nur als Hinweis auf ein vielleicht überwiegendes Vorkommen angesehen werden. Wenn nämlich die Terminalität des Kotyledos nur eine durch Hemmung der Achsenentwicklung bedingte extreme Modifikation der bauplanmäßig zugrunde liegenden rein lateralen Anlegung und mit dieser durch Übergänge verbunden ist, dann ist ebensowenig wie etwa bei krautigem oder baumförmigem Wuchs zu erwarten, daß dieses Phänomen, von Ausnahmen abgesehen, ein durchgängiges Familienmerkmal abgibt.

Keinesfalls darf man die morphologische Ableitung des endständigen Kotyledos vom seitlich angelegten ohne weiteres phylogenetisch verstehen, ein Mißverständnis, dem typologische Untersuchungen immer wieder ausgesetzt sind. Sicher erscheint nur, daß bauplanmäßig der *Sagittaria*-Typ der Embryonalentwicklung gegenüber derjenigen der Keimlinge mit fast oder ganz scheitelbürtiger Sproßspitze als abgeleitet anzusehen ist, daraus aber Schlüsse auf das Aussehen der Keime der ersten Monokotylen zu ziehen, wäre voreilig.

Zusammenfassung.

1. Eine eingehende Analyse der Embryoentwicklung bei *Ottelia alismoides* ergibt folgende Abweichungen vom bisher als für die Helobiae typisch angesehenen *Sagittaria*-Typ:

a) Die ersten Wände in den Quadranten des Endsegments sind durchaus nicht immer ± transversal, sondern vielfach vertikal orientiert. Am häufigsten ist eine Wandziehung, deren Möglichkeit SOUÈGES bei

Sagittaria überhaupt nicht in Betracht gezogen hat. Eine typische Oktantenbildung mit der Unterteilung des Endsegments in die Etagen *l* und *l'* ist nicht zu beobachten.

b) Der Kotyledo und die Sproßspitze werden, entgegen der anders lautenden Feststellung MURTHYS, *nebeneinander* aus den Zellen des Endsegments ausdifferenziert. Das Keimblattprimordium wächst zuerst durch auch die äußere Zellage einbeziehende Periklinalteilungen. Die Individualisierung der dermatogenen Schicht erfolgt also im Endsegment relativ spät.

c) Die Plumula weist distiche Blattstellung auf. Der reife Embryo ist mit der Basalzelle durch eine nur aus 2 Gliedern bestehende Zellreihe verbunden.

2. Eine vergleichende Betrachtung der Embryoentwicklung aller bisher daraufhin untersuchten Vertreter der Helobiae ergibt weitere Fälle vermutlich nichtterminaler Keimblattgenese besonders bei den Potamogetonaceen und Hydrocharitaceen.

3. Da die scheitelbürtige Keimblattbildung nur eine durch Hemmung der Achsenentwicklung bedingte extreme Modifikation der bauplanmäßig zugrunde liegenden rein lateralen Anlegung ist, sind Terminalität und Lateralität des Kotyledos keine Alternativmerkmale, sondern durch Übergänge miteinander verbunden.

4. Es ist daher nur bei gleichzeitiger Berücksichtigung vergleichend morphologischer Gesichtspunkte zulässig, den — zudem noch sehr variablen — Segmentierungsmodus im Proembryo und das weitere Schicksal der ersten Zellen zur Grundlage für systematische Entscheidungen zu machen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für finanzielle Unterstützung ohne die ich die vorliegende Untersuchung nicht hätte durchführen können.

Literatur.

1. AFZELIUS, K.: Sv. bot. Tidskr. **14**, 168 (1920). — 2. BHADURI, P. N.: Bot. Gaz. **98**, 283 (1936). — 3. BORTHWICK, H. A.: Bot. Gaz. **92**, 23 (1931). — 4. BURR, H. C.: Ohio Nat. **3**, 439 (1903). — 5. CAMPBELL, D. H.: Proc. Calif. Acad. Sci. Bot., III. ser. **1**, 1 (1897). — 6. CAMPBELL, D. H.: Ann. of Bot. **12**, 1 (1898). — 7. COOK, M. T.: Ohio Nat. **7**, 97 (1907). — 8. COOK, M. T.: Bull. Torrey Bot. Club **35**, 209 (1908). — 9. COULTER, J. M., and W. J. C. LAND: Bot. Gaz. **57**, 509 (1914). — 10. COULTER, J. M., and C. J. CHAMBERLAIN: Morphology of Angiosperms. New York 1915. — 11. DAHLGREN, K. V. O.: Bot. Not. (Lund) **1939**, 607. — 12. FAMINTZIN, A.: Mém. Acad. Sci. Pétersbourg, VII. sér. **26**, Nr 10 (1879). — 13. GOEBEL, K.: Organographie der Pflanzen, 3. Aufl., Bd. III. Jena 1933. — 14. GRAVES, A. H.: Trans. Connecticut Acad. Arts a. Sci. **14**, 59 (1908). — 15. HACCIUS, B.: Planta (Berl.) **40**, 333 (1952). — 16. HANSTEIN, J.: Die Entwicklung des Keims der Monokotylen und Dikotylen. Bonn 1870. — 17. HIRMER, M.: Zur Lösung des Problems der Blattstellungen. Jena 1922. — 18. HOFMEISTER, W.: Bot. Ztg. **10**, 121, 137, 157 (1852). — 19. HOFMEISTER, W.: Abh.

k. sächs. Ges. Wiss. **7**, 629 (1861). — 20. JOHANSEN, D. A.: Bot. Review **11**, 87 (1945) — 21. JOHANSEN, D. A.: Plant Embryology. Chronica botanica, Waltham 1950. — 22. JOHRI, B. M.: J. Ind. Bot. Soc. **14**, 49 (1935). — 23. JOHRI, B. M.: Proc. Ind. Acad. Sci. B **2**, 33 (1935). — 24. LOTSY, J. P.: Vorträge über Botanische Stammesgeschichte III. Jena 1911. — 25. MAHESHWARI, P.: Proc. Ind. Acad. Sci. B **13**, 260 (1943). — 26. MAHESHWARI, P.: The embryology of Angiosperms. New York, Toronto, London 1950. — 27. MAHESHWARI, P., and B. M. JOHRI: J. Ind. Bot. Soc. **29**, 47 (1950). — 28. MAURITZON, J.: Lunds Univ. Årsskrift N. F. **35**, Nr 15 (1939). — 29. MURBECK, Sv.: Kungl. svenska Vetenskapsakad. Handl. **36**, Nr 5 (1902). — 30. MURTHY, N. S. K.: Proc. Ind. Acad. Sci. B **2**, 59 (1935). — 31. ROSENBERG, O.: Kungl. svenska Vetenskapsakad. Handl. **27**, Nr 6 (1901). — 32. SARGANT, E.: Ann. of Bot. **22**, 121 (1908). — 33. SCHAFFNER, J. H.: Bot. Gaz. **21**, 123 (1896). — 34. SCHAFFNER, J. H.: Bot. Gaz. **23**, 252 (1897). — 35. SCHNARF, K.: Embryologie der Angiospermen. Berlin 1929. — 36. SERGUÉEFF, M.: Contribution à la morphologie et la biologie des Aponogétonacées. Diss. Genf 1907. — 37. SOLMS-LAUBACH, H. Graf zu: Bot. Ztg **36**, 65 (1878). — 38. SOUÈGES, R.: C. r. Acad. Sci. Paris **178**, 860 (1924). — 39. SOUÈGES, R.: Ann. Sci. natur. Bot., X. sér. **13**, 353 (1931). — 40. SOUÈGES, R.: Essai d'un Système Embryogénique. Paris 1939. — 41. SOUÈGES, R.: C. r. Acad. Sci. Paris **211**, 232 (1940). — 42. SOUÈGES, R.: C. r. Acad. Sci. Paris **216**, 746 (1943). — 43. STENAR, H.: Bot. Notiser **1935**, 78. — 44. SUESSENGUTH, K.: Beih. bot. Cbl. **38**, Abt. 2, H. 1 (1920). — 45. THIELKE, CH.: Planta (Berl.) **39**, 402 (1951). — 46. TROLL, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. I/1. Berlin 1937. — 47. TROLL, W.: Abh. math.-naturwiss. Kl. Akad. Wiss. u. Lit. Mainz **1950**, Nr 10. — 48. WILLE, N.: Vidensk. Meddel. Nat. Foren., Kopenhagen **1882**. — 49. WITMER, S. W.: Amer. Naturalist **18**, 309 (1937). — 50. WYLIE, R. B.: Bot. Gaz. **37**, 1 (1904).

Priv.-Doz. Dr. BARBARA HACCIUS, Mainz,
Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 40, S. 461—514 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN INFEKTIONSVORGANG UND DIE WANDERUNG DES TABAKMOSAIKVIRUS IM PFLANZENKÖRPER.

Von

HENDRIK ZECH.

Mit 18 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Februar 1952.)

I. Einleitung.

Seit der Entdeckung STANLEYs (1935, 1936), daß aus dem Preßsaft mosaikkranker Tabakpflanzen Nukleoproteide[1] parakristallin isoliert werden können, die außerordentlich infektiös sind und offenbar das eigentliche krankheitserregende Virus selbst darstellen, trat zugleich mit der Frage nach dem Wesen der Vermehrung dieser Substanzen im lebenden Protoplasma auch die nach dem Mechanismus ihrer Ausbreitung von Zelle zu Zelle und ihrer Wanderung durch den Pflanzenkörper immer stärker in den Vordergrund des Interesses. Alle bisherigen Erfahrungen (HOLMES 1930, 1931, 1932; SAMUEL 1931, 1934; CALDWELL 1934; KUNKEL 1939; BENNETT 1937, 1940 et multi alii) deuten darauf hin, daß sich Viruserkrankungen zwar im Parenchym relativ langsam, in den spezifischen Leitbahnen aber, vorzugsweise wohl in den Siebröhren, unter Umständen mit Geschwindigkeiten vorwärts zu bewegen vermögen, die der maximalen Geschwindigkeit des normalen organischen Stofftransportes gleichkommen. Daraus ist von manchen Autoren (SAMUEL 1934; BENNETT 1940; KÖHLER 1941, 1947) geschlossen worden, daß das Virus passiv in einer Massenströmung der Assimilate verschleppt würde. Das „Molekulargewicht" von Tabakmosaikvirusteilchen definierter Größe ist aber aus ihren Diffusions- und Sedimentationsgeschwindigkeiten und auf Grund viskosimetrischer Untersuchungen mit etwa $40 \cdot 10^6$ errechnet worden (LAUFFER 1944; SCHRAMM und BERGOLD 1947), und es muß als höchst unwahrscheinlich bezeichnet werden, daß derartige Riesenmoleküle überhaupt von einer Zelle zur anderen überzutreten vermögen, zumal wir auch aus dem normalen Eiweißstoffwechsel nichts darüber wissen, daß fertiges Eiweiß wanderfähig ist. Hier sind, soweit dies heute bekannt ist, Aminosäuren bzw. Amide die größten Moleküle, die für den Stofftransport in Frage kommen.

[1] BAWDEN und PIRIE (1936) wiesen die Nukleoproteidnatur der isolierbaren Stäbchen nach.

Es lag daher nahe, zu vermuten, daß auch bei der Ausbreitung des Tabakmosaikvirus im Pflanzenkörper vielleicht nicht die isolierbaren infektiven Virusteilchen, sondern kleinere Einheiten die eigentlichen Überträger der Erkrankung sein könnten. Eine genaue Untersuchung des Infektionsvorganges und der Ausbreitung der Krankheitserscheinungen in den Zellen des Pflanzenkörpers mußte dabei nicht nur für diese speziellen Fragen, sondern auch für das Gesamtproblem der Virusvermehrung im lebenden Protoplasma von erhöhtem Interesse sein. Die vorliegende Arbeit versucht, durch eine sorgfältige mikroskopische Kontrolle der Entwicklung aller sichtbaren Krankheitssymptome, verbunden mit gleichzeitigen Infektivitätstesten, am Beispiel des Tabakmosaiks einen Beitrag zu diesen Fragen zu liefern. Die Untersuchungen wurden in den Jahren 1948, 1949 und 1950[1] im Botanischen Institut der Universität Bonn durchgeführt, auf Anregung meines verehrten Lehrers, Herrn Prof. Dr. SCHUMACHER, dem ich auch an dieser Stelle für die Ermöglichung meiner Arbeit, für seine stete Hilfe und Kritik danken möchte.

II. Material und allgemeine Methodik.

Als Versuchspflanzen dienten in erster Linie Gewächshausanzuchten von *Nicotiana tabacum*, Sorte Maryland, deren Saatgut aus einer Anpflanzung in Rheinbreitbach stammte. Die Symptomausbildung der infizierten Pflanzen dieser Herkunft war besonders ausgeprägt, und die Reaktionsempfindlichkeit auf Virusbefall erwies sich anderen untersuchten Sorten gegenüber zu allen Jahreszeiten überlegen. Daneben wurden verwendet: *N. tabacum*, Sorte White Burley[2], *N. glauca*[2], *N. silvestris*[2], *N. tomentosa*[2], *N. longiflora*[2], *N. paniculata*[2], *Cucurbita maxima*[3].

Als Testpflanzen für die Prüfung der Infektivität wurden *Nicotiana glutinosa*[2] und *Phaseolus vulgaris*, Handelsware, verwendet.

Für die Infektionen wurden 3 Stämme des Tabakmosaikvirus *(Marmor tabaci)* benutzt, nämlich *TMV vulgare*, *TMV flavum* und *TMV luridum*, sämtlich aus dem Max Planck-Institut für Biologie, Abt. MELCHERS, Tübingen[4].

Die Infektivitätsteste wurden in folgender Weise angestellt:

1. *Preßaftherstellung.* Zur Austestung der Infektivität einzeln zu untersuchender Pflanzenorgane wurden diese im Mörser zerrieben, schnell filtriert und

[1] Die Ausführung der Arbeit wurde aus Mitteln der „Dr.-Hugo-Henkel-Spende" unterstützt, für deren Bereitstellung ich verbindlichst danke.

[2] Das Saatgut wurde vom Tabakforschungsinstitut Forchheim freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

[3] Herrn Priv.-Doz. Dr. WEILING, Institut für landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn, danke ich freundlichst für die Überlassung des Saatgutes.

[4] Für die Überlassung der TMV-Stämme möchte ich Herrn Prof. Dr. MELCHERS meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

mit 0,02 m Phosphatpuffer oder Leitungswasser auf p_H 6,8 gebracht. Leichtes Ansteigen der Alkalität frisch hergestellter Preßsäfte wurde trotz Pufferung immer wieder beobachtet, die aber p_H 7,2 nie überschritt. Preßsäfte aus *TMV vulgare*- und *TMV luridum*-kranken Pflanzen wurden im allgemeinen wegen ihrer hohen Infektivität (gemessen an der Zahl der Lokalläsionen auf *N. glutinosa*) 1:100 verdünnt, während die mit *TMV flavum* infizierten Inocula mit ihrem geringen Gehalt an isolierbarem, infektiösem Agens (Melchers, Schramm, Trurnit und Friedrich-Freksa 1940) 1:10 und verdünnt gebraucht wurden.

2. Für die Abschätzung der relativen Infektivität von Gewebepreßsäften wurde der übliche *N. glutinosa*-Test nach Holmes (1929) in der Modifikation von Youden und Beale (1934) verwendet, wenn die Anzahl der gleichzeitig zu testenden Proben nicht 16 überschritt.

Auf Blatthälften kräftiger, gleichaltriger, unter gleichen Bedingungen im Gewächshaus angezogener *N. glutinosa*-Pflanzen im vegetativen Stadium mit 10 bis 12 Blättern wurden die zu testenden Preßsäfte oberseits mit dem Finger gleichmäßig verrieben. Da die einzelnen Blätter gleicher Pflanzen je nach Alter, Beschaffenheit und Stellung im Gegensatz zu den zusammengehörigen Blatthälften verschieden empfindlich auf die TMV-Infektion reagieren, läßt sich durch nebenstehende Schema (Youden und Beale 1934) ein befriedigender Mittelwert für die Auszählung der Lokalläsionen erreichen.

Schema der gleichzeitigen Austestung von 8 Preßsaftproben auf je 4 in Alter und Stellung zur Sproßachse vergleichbaren N. glutinosa-Blättern (8 Blatthälften) und 8 Pflanzen.

	A	a	B	b	C	c	D	d
G_1	1	2	3	4	5	6	7	8
G_2	2	3	4	5	6	7	8	1
G_3	3	4	5	6	7	8	1	2
G_4	4	5	6	7	8	1	2	3
G_5	5	6	7	8	1	2	3	4
G_6	6	7	8	1	2	3	4	5
G_7	7	8	1	2	3	4	5	6
G_8	8	1	2	3	4	5	6	7

Die großen und kleinen Buchstaben bezeichnen die Hälften gleicher Blätter; G_{1-8} die einzelnen Testpflanzen; mit den Zahlen sind die verschiedenen Preßsäfte numeriert.

Die Mittelwerte der Summen der gebildeten Lokalläsionen auf den für jede Probe bezeichneten Blatthälften wurden zur Wertung ihrer relativen Infektivität verwendet.

3. Überschritt die Anzahl der gleichzeitig zu testenden Proben (z. B. von großen Versuchspflanzen) die verfügbare Zahl der Blatthälften einer Testpflanze, wurde jede Preßsaftprobe auf die Blätter von 2 ganzen vergleichbaren Testpflanzen verrieben, und zwar immer die linken Blatthälften von Pflanze 1 mit unverdünntem, die rechten mit verdünntem Inoculum. Bei Pflanze 2 wurde umgekehrt verfahren. Auf diese Weise wurden befriedigende Durchschnittsresultate für jede Preßsaftkonzentration erhalten.

4. War die verfügbare Menge der einzelnen Inocula sehr klein, wurden sie gleichfalls vorsichtig auf Blatthälften von 2 Testpflanzen verrieben. Die Anzahl der benutzten Blatthälften hing von der vorhandenen Preßsaftmenge ab.

5. Als Objekte für die Infektivitätsteste wurden die Preßsäfte von ganzen Blättern und einzelnen Blatteilen, von Stengelsegmenten, Wurzelabschnitten und Infloreszenzteilen verwendet.

6. Da von jeder Preßsaftprobe meist nur geringe Mengen zum Verreiben auf N. glutinosa verbraucht wurden und die Methode des Verreibens kein quantitatives Auftragen des Preßsaftes zuläßt, wurde kein Bezug auf das Frischgewicht der benutzten Organteile genommen. Als Bezugsgröße für die relative Infektivität

der einzelnen Proben wurde die durchschnittliche Anzahl der Lokalläsionen auf der planimetrisch ermittelten Gesamtfläche der mit den einzelnen Proben eingeriebenen N. glutinosa-Blatthälften gewählt.

7. Obwohl der durch Auspressung isolierbare infektive Stoff in den einzelnen Geweben eines Organabschnitts ursprünglich quantitativ unterschiedlich lokalisiert sein kann, genügte im Rahmen dieser Arbeit zumeist die Ermittlung der Durchschnittsinfektivität des Gesamtpreßsaftes eines solchen Pflanzenteils. Lediglich vor dem Auspressen der Stengelsegmente wurden Holzzylinder und Mark entfernt und für sich getestet, um die Verdünnung der Proben mit quantitativ überwiegenden Säften nichtinfizierter Gewebe zu vermeiden. Selbst in Stengelzonen mit starken Virussymptomen ließ sich mit dem *N. glutinosa*-Test im Holzzylinder, im Innenphloem und Mark so selten Infektivität nachweisen, daß diese Gewebe praktisch ausgeschieden werden konnten.

8. Versuchsweise wurden zur Erlangung einer besseren TMV-Ausbeute vergleichend Stengelproben mit Trypsin (Merck 8367) in der üblichen Weise behandelt. (0,05 g Trypsin wurden den in 20 cm^3 0,01 m Phosphatpuffer aufgeschwemmten Preßrückständen zugefügt, bei 37° C 10 Std inkubiert, dann erneut ausgepreßt und der gefilterte Überstand mit dem Saft der ersten Auspressung vereinigt). Durch diese Behandlung stieg die Anzahl der Lokalläsionen durchschnittlich um 30% an. Da sich das Ansteigen der Läsionszahlen in Organteilen mit niedriger isolierbarer Infektivität kaum bemerkbar machte, wurde im Interesse des schnellen Verarbeitens der Pflanzen auf die enzymatische Aufschließung des TMV verzichtet.

III. Die mikroskopische Beobachtung des Fortschreitens virusbedingter Symptome in den Haaren von N. tabacum.

Die Infektion mit Tabakmosaikvirus (TMV) ruft bekanntlich im Protoplasma der betroffenen Zellen in der Regel eine Reihe auffälliger Veränderungen hervor. Die auffallendsten Symptome sind bereits gut bekannt und in der Literatur mehr oder weniger eingehend beschrieben. Einzelheiten konnten jedoch im Verlauf der vorliegenden Arbeit, vor allem bezüglich der vom Virus induzierten Chloroplastenteilungen und -zerstörungen in ausgewachsenen Zellen und der Entstehungsfolge kristalliner Einschlußkörper, mit dem Phasenkontrastverfahren neu beobachtet werden[1]. Die bemerkenswertesten Phasen des Krankheitsbildes der Primärinfektion ausgewachsener Zellen scheinen kurz die folgenden zu sein: Zunächst quillt das Plasma unter zunehmender Bildung von wulstigen Strängen stark auf. Mikrosomen und sonstige kleine Partikel erscheinen in lebhaftester Molekularbewegung im Plasma wie in der verengten Vakuole. Die Strömungsgeschwindigkeit des Plasmas steigt periodisch stark an, und gleichzeitig hypertrophieren meist Kern (unter Sichtbarwerden der Retikularstrukturen) und Nukleolus. In diesem Zustand setzen wiederholt Teilungen der Plastiden ein, wobei (besonders beim Gelbstamm) ein Teil von ihnen völlig zerstört wird. Diese Chloroplastenzerstörung, deren Ausmaß ein gutes Kriterium für die Schwere der Virusschädigung ist, bedingt die auch makroskopisch

[1] Die Einzelheiten dieser Beobachtungen sollen a. a. O. ihre Beschreibung finden.

sichtbare Verfärbung der primären Herde im Blatt. In diesem Zustand wird die reichlich angehäufte Assimilationsstärke auch im Dunkeln nicht mehr abgebaut. Viele isolierte Stärkekörner aus zerfallenen Chloroplasten werden sogar im Plasma sichtbar.

Die stationäre photisch bedingte Ordnung der Plastiden wird gestört. Sie treiben in abnormaler Anzahl und verschiedensten Schädigungsgraden in den oft blasenartig vakuolisierten äußeren Plasmaschichten umher. Das Phasenkontrastbild zeigt in tieferen Zonen dieser Blasen feine, lamellenartige Vakuolisierung schnell strömenden Plasmas. In diesen begrenzten Schichten konnten frühe Stadien der Bildung amorpher X-Körper und kristalliner Einschlüsse direkt beobachtet und in den aufeinanderfolgenden Phasen ihres Appositionswachstums photographiert werden. Diese Vorgänge können in starker Abhängigkeit von der Virulenz der einzelnen TMV-Stämme und von allerlei Innen- und Außenfaktoren der Wirtspflanzen stehen und auch mehr oder weniger reversibel sein.

Obwohl bis heute noch keine Klarheit besteht, wie weit alle oder einzelne der in den infizierten Zellen zu beobachtenden Symptome, vor allem unter den letztgenannten, direkte Bildungen der eingedrungenen und im Plasma stark vermehrten Viruspartikel[1] sind oder sekundäre Reaktionen des durch den Virusangriff gestörten Zellstoffwechsels darstellen, schien es doch verlockend, einmal nicht nur die Symptome selbst zu studieren, sondern ihr schrittweises Auftreten in benachbarten Zellen als Kennzeichen für die Ausbreitung der Virusinfektion zu verwenden. Eine solche direkte mikroskopische Beobachtung des Infektionsvorganges und seiner Ausbreitung von Zelle zu Zelle stößt allerdings auf große Schwierigkeiten, da der Verwendung von Schnitten enge zeitliche Grenzen gesetzt sind und der präletale Zustand solcher Gewebe meist die Weiterentwicklung intraplasmatischer Symptome mehr oder weniger unterbindet. Allein die isolierten Zellketten von Haaren schienen die Möglichkeit zu bieten, ohne zerstörende Eingriffe auf einer begrenzten Strecke direkte Beobachtungen durchzuführen. An ihnen sind daher die folgenden Versuche angestellt worden.

1. Methodik.

Um unter möglichst schonenden Bedingungen arbeiten zu können, wurden etwa 50 cm hohe Topfpflanzen von *N. tabacum* var. Maryland, die einer Gewächshausanzucht entstammten, so neben Mikroskope postiert, daß die Ränder geeigneter und im Alter vergleichbarer Blätter

[1] Unter Viruspartikel wird hier und in der Folge das infektiöse Agens verstanden, das in den isolierten Stanleyschen Parakristallen in irgendeiner Form enthalten ist.

bequem auf den Objekttisch zu legen und ihre dort stehenden Haare ohne oder nur mit leichter Beschwerung der Blätter zu beobachten waren. In dieser Position wurden die Spitzen großer, mindestens fünfzelliger Haare mit *TMV flavum* infiziert. Vorversuche hatten ergeben, daß sich einzelne Haare nach Abschneiden der Drüsenköpfchen oder Spitzenzellen sehr schwer mit TMV-Preßsäften — vielleicht auf Grund einer Wundreaktion — inokulieren lassen. Wurden solche Haarzellen jedoch submers in einer dünnen Virusgelatine (100 cm^3 filtrierter Preßsaft 1 : 10 + 5 g Gelatine, 17° C) abgeschnitten, die unmittelbar die Wundstelle verschloß, so gelang die Infizierung in vielen Fällen. Zusätzlich wurde den dekapitierten Haaren anschließend ein Tröpfchen steiferer Gelatine der gleichen Viruskonzentration (auf 15° C abgekühlt) aufgesetzt. Die Kontrollpflanzen wurden in gleicher Weise behandelt; der Gelatine war in diesem Fall jedoch Preßsaft gesunder Pflanzen (1 : 10) zugesetzt worden. Die Fußzellen der behandelten Haare wurden mit einem Tropfen Paraffinum liq. gekennzeichnet. Während der ersten 5 Versuchstage wurden diese Haare in möglichst kurzen, später in längeren Zeitabständen mikroskopisch beobachtet. Als Objektive wurden 6 L von Leitz (45mal) wegen des großen Objektabstandes und die apochromatische Wasserimmersion 70mal/n = 1,25 von Zeiß verwendet. Die Untersuchungen wurden in einem Tropfen Wasser ohne Deckglas vorgenommen. Acht Versuche mit je 2 Testpflanzen und 4 Kontrollen wurden in einem Zeitraum von 16 Wochen durchgeführt. Die Dauer der fortlaufenden Beobachtungen einzelner Haare hing von deren Lebensfähigkeit und dem zunehmenden Schädigungsgrad der Blätter durch die Infektion ab und erstreckte sich in einzelnen Fällen über 3 Wochen. In den benachbarten, sekundär, d. h. durch Einwanderung von der Basis aus, infizierten Haaren konnten die später eintretenden Veränderungen der intrazellulären Symptomausbildung noch länger verfolgt werden. In den Zellreihen von 15 verschiedenen infizierten Haaren wurde bei gleichzeitiger Beobachtung der gesunden Kontrollhaare in 8 neuntägigen Versuchen die Strömungsgeschwindigkeit des Zytoplasmas mit Stoppuhr und Mikrometerokular fortlaufend gemessen. Nach dieser Zeit wurden größere Meßreihen nur bei auffälligen Änderungen der Strömungsgeschwindigkeit des Plasmas gesondert durchgeführt. Im allgemeinen wurden für jeden Durchschnittsmeßwert 50 Einzelmessungen abgelesen, in schwieriger zu beobachtenden Fällen, besonders wenn die Geschwindigkeit in den verschiedenen Plasmasträngen der einzelnen Zellen differierte, wurden bis zu 100 Messungen verwertet. Alle neu auftretenden, morphologisch erfaßbaren intraplasmatischen Veränderungen wurden gleichzeitig mit den Werten für die jeweilige Strömungsgeschwindigkeit protokolliert.

2. Die zeitliche Folge des Auftretens virusbedingter intrazellulärer Symptome in der Zellkette eines einzelnen Haares.

Aus den Protokollen sei nun im folgenden die 9tägige Beobachtung eines Haares ausgewählt, dessen sämtliche Zellen bei Versuchsende noch intakt waren. Die Beobachtungsergebnisse an dieser speziellen Infektionskette waren im ganzen typisch für Pflanzen unter relativ gleichbleibenden Laboratoriumsbedingungen. Die unzureichende Beleuchtung führte allerdings zu früherer Ausbildung von kristallinen Einschlüssen in den Zellen, als dies bei gleichzeitig infizierten Haaren von Gewächshauspflanzen unter besseren Beleuchtungsbedingungen der Fall war.

Da die abnormal beschleunigte Plasmaströmung der einzelnen Zellen im gleichen Haar zunächst bei den angewandten Versuchsmethoden die einzige laufend meßbare Variable war, wurde ihre relative Geschwindigkeit in sämtlichen Zellen des Versuchshaares während der Versuchsdauer als Bezugsgröße für die unterschiedlich auftretenden intraplasmatischen Veränderungen der einzelnen Zellen gewählt. Die Strömungsgeschwindigkeit des Plasmas ist allerdings eine Größe, die infolge ihrer Abhängigkeit von zahlreichen, nicht unmittelbar erkennbaren anderen physiologischen Faktoren, unter anderem auch von Außenbedingungen als Bezugsgröße von anzufechtendem Wert ist. Zudem herrschten in der gleichen Zelle in verschiedenen Tiefenlagen des Plasmas oft während bestimmter Vorgänge verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten. Trotzdem wurde sie verwendet, weil gefunden wurde, daß sich in einem einzelnen vielzelligen Haar der Plasmazustand und damit wahrscheinlich seine Viskosität immer dann auffallend veränderte, wenn entscheidende intrazelluläre Vorgänge bevorstanden oder eingetreten waren. Das Verfahren dürfte allerdings nicht ausreichen, um andere feinere Schwankungen im Plasmazustand erfassen zu können.

Das auf die vorstehend beschriebene Weise infizierte Haar hatte eine Gesamtlänge von 1302 μ und bestand aus 6 intakten Zellen, die im Darstellungsschema (von der Spitze aus gerechnet) mit Z_1—Z_5 und B = Basalzelle bezeichnet sind.

Die Längen der einzelnen Zellen betrugen aufgerundet: $Z_1 = 64\,\mu$, $Z_2 = 111\,\mu$, $Z_3 = 154\,\mu$, $Z_4 = 226\,\mu$, $Z_5 = 367\,\mu$, $B = 380\,\mu$.

In Abb. 1 sind die Meßwerte der relativen Zirkulationsgeschwindigkeiten des Plasmas sämtlicher Zellen dieses Haares in μ/sec für jede Zelle auf die einzelnen Ordinaten und die Zeitpunkte der Messungen auf die Abszissen eingetragen. Das Koordinatensystem ist in 9 × 24-Std-Abständen auf der 0-Linie unterteilt. Die verlängerte Ordinate wird von Abszissen für jede der 5 weiteren Zellen geschnitten. Die Reihenfolge der Zellen vom 0-Punkt nach oben ist Z_1—B. Die Meßpunkte für die

Strömungsgeschwindigkeiten der gesunden Kontrollhaarzellen wurden der besseren Übersichtlichkeit halber nur in das System der Zelle 1 eingezeichnet, da die Werte der übrigen Zellen sich nicht wesentlich von denen der Z_1 (gesund) unterschieden. Das Auftreten von innerplasmatischen Einschlüssen und besonderen morphologischen Veränderungen

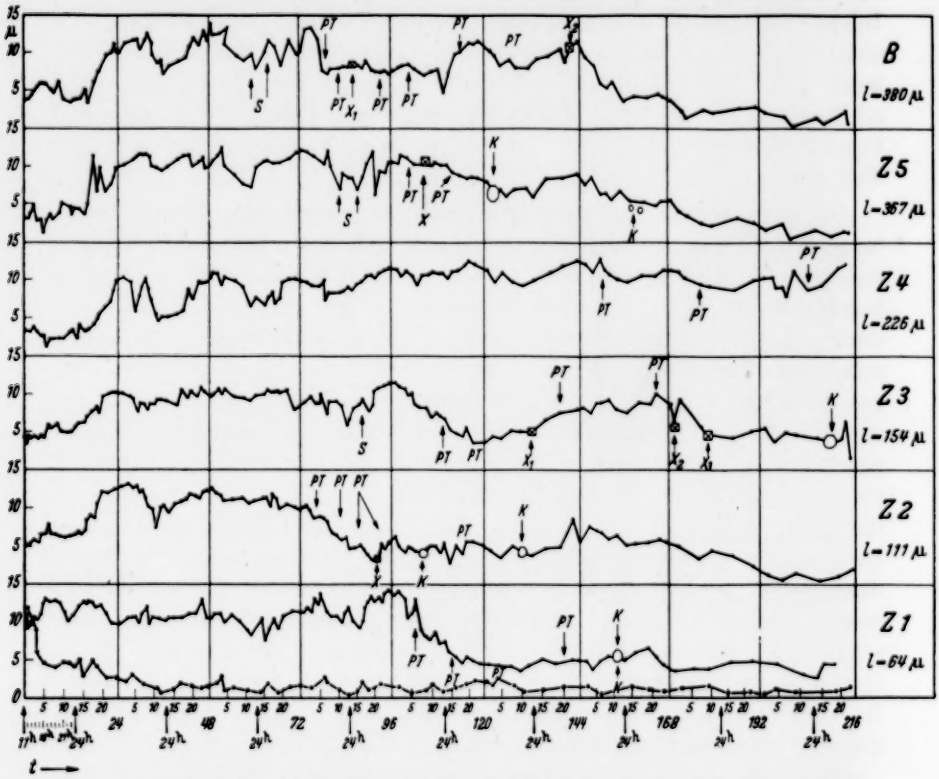


Abb. 1. Strömungsgeschwindigkeiten des Plasmas der Zellen eines an der Spitze infizierten Haares. *s* Plasmaschwellung; *PT* Plastidenteilungen; *x* X-Körper; *K* Kristall. Erklärung im Text.

wurde im Kurvenverlauf der Strömungsgeschwindigkeit jeder einzelnen Zelle mit besonderen Zeichen markiert: *S* Plasmaschwellung; *PT* anomale Plastidenteilungen; *X* Auftreten von X-Körpern; *K* Auftreten von im Hellfeld sichtbaren Kristallen.

Für die Messungen wurden nach Möglichkeit gut differenzierbare Partikel mittlerer Strömungsgeschwindigkeit gewählt. Schneller, langsamer oder ruckweise bewegte Teilchen wurden vernachlässigt. Die Zeitpunkte der Messungen sind der Zeichnung zu entnehmen.

Die Messungen begannen unmittelbar nach der Infektion. Offenbar überdeckte zunächst innerhalb der ersten $2^1/_2$ Std der Wundreiz infolge

der Dekapitierung jeden anderen Vorgang, da in den beiden Kontrollen wie im Versuchshaar die Strömungsgeschwindigkeit gleichartig anstieg. Während nämlich in unverletzten Haaren in allen Zellen meist die gleiche Geschwindigkeit herrscht, deutet eine in Tabelle 1 angeführte Meßreihe (30—55 min nach der Infektion) mit ihren in der Spitzenzelle erhöhten und in den anderen Zellen basalwärts abfallenden Werten auf eine Wundreizleitung von der verletzten Spitze aus.

Wie schon oben erwähnt, sinkt jedoch die Plasmaströmung in den dekapitierten, aber nicht infizierten Kontrollhaaren nach einiger Zeit wieder auf niedrigere Werte, obwohl die Beleuchtung während der Messungen wahrscheinlich das Sinken auf die Normalwerte beeinträchtigte. Nach 15 Std dürften sie mit Sicherheit ihren alten „Normalwert" wieder erreicht haben. Demgegenüber bleibt in den infizierten Haaren die Strömungsgeschwindigkeit weiterhin abnorm hoch, ohne daß in dieser nunmehr allein durch die Infektion bedingten Beschleunigung in den einzelnen Zellen eine Abstufung etwa in der Ausbreitungsrichtung erkannt werden könnte, da offenbar der Wundreiz zu spät für die Beobachtung eines solchen Gefälles abklingt.

Tabelle 1. *Strömungsgeschwindigkeiten in* μ/sec.

	Z_i	Z_{g1}	Z_{g2}
Z_1	11,0	9,2	11,7
Z_2	5,5	8,0	8,3
Z_3	4,3	4,0	6,5
Z_4	3,6	3,5	3,3
Z_5	3,2	3,7	3,2
B	3,8	2,4	3,1

Z_i = Zellen der infizierten Haare; Z_{g1} = Zellen der ersten gesunden Kontrolle; Z_{g2} = Zellen der zweiten gesunden Kontrolle, sämtlich in der Zeitspanne von 30—55 min nach der Dekapitierung gemessen. Reihenfolge Z_i, Z_{g1}, Z_{g2}.

Die Ergebnisse der Beobachtungsreihe waren im einzelnen folgende:

Erste 24-Std-Periode. Z_1, die der Verwundung und der Eintrittsstelle des Virus am nächsten lag, zeigte schon nach 5 Std hohe Strömungsgeschwindigkeiten bis zu 13 μ/sec, die mit minimalen Schwankungen fast bis zur 20. Std nach der Infektion beibehalten wurden, dann aber gegen Ende der Periode bis auf 8 μ/sec abfielen. Sämtliche anderen Zellen zeigten erst nach 10 Std mehr oder weniger langsame Zunahme der Strömungsgeschwindigkeit, ohne daß in den einzelnen Zellen eine Reihenabstufung erkannt werden konnte. Nach 24 Std erreichten die Strömungsgeschwindigkeiten in den Zellen Z_2 *bis* B über 10 μ/sec, während die Werte der Kontrollen sämtlich um 3 μ/sec schwankten. Das Protoplasma war zu dieser Zeit wulstig gequollen, die Kerne etwas deformiert, die Plastiden unregelmäßig verlagert.

Zweite 24-Std-Periode. Während der gesamten Periode wurden diese Geschwindigkeiten in allen Zellen bis auf nächtliche Schwankungen beibehalten. Die Plasmastränge verbreiterten sich, die Messungen wurden sehr erleichtert, da die Zahl der von der Strömung mitgeführten Mikrosomen sich ständig vermehrte. In Z_1 *und* B sammelten sich um die Kerne größere Plasmamassen; die Kerne selbst erschienen unregelmäßig aufgetrieben.

Dritte 24-Std-Periode (48.—72. Std). Keine auffallende Erhöhung oder Erniedrigung der Strömungsgeschwindigkeiten in sämtlichen Zellen. In Z_2 wurde gegen das Periodenende auffallende Vakuolisierung des Plasmas beobachtet.

Sämtliche Kerne erschienen hypertrophiert, in der Zellsaftvakuole und in den einzelnen Plasmavakuolen war lebhafte BROWNsche Molekularbewegung zu bemerken.

Vierte 24-Std-Periode (72.—96. Std). Während der plasmatische Zustand von Z_1 sich gegenüber dem Vortage nicht änderte, die Strömungsgeschwindigkeiten dauernd über 10 μ/sec lagen und gegen Ende der Periode 13 μ/sec überschritten, begannen sich in Z_2 75 Std nach der Infektion die Plastiden zu teilen. Große

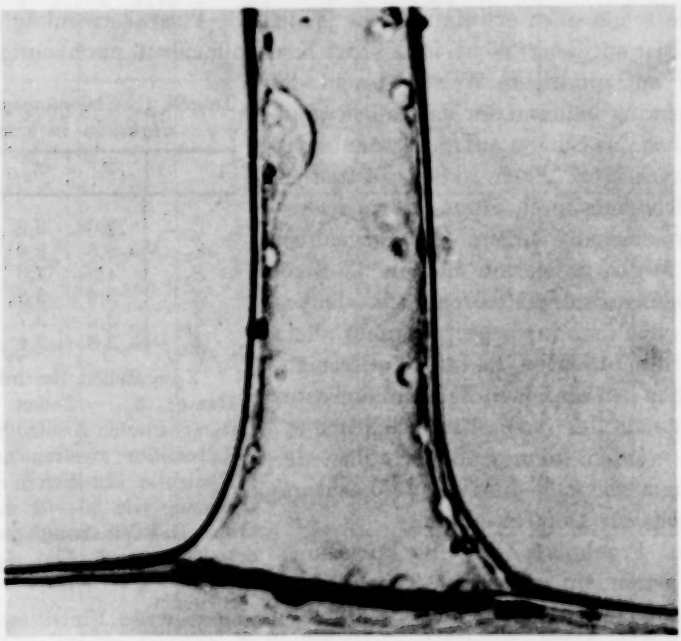


Abb. 2. Basalzelle eines gesunden Haares von *N. tabacum*. Lebendaufnahme, 400mal.

Plasmavakuolen traten auf, der Zustand entsprach dem in Abb. 3 abgebildeten. Mit dem Höhepunkt der Plastidenteilung fiel die Plasmaströmung auf Werte dicht unter 5 μ/sec, ohne daß die Teilungen aufhörten. Die körnigen Massen in Kernnähe verdichteten sich, und nach 92 Std wurde der erste amorphe X-Körper neben dem Kern sichtbar (Abb. 4).

In Z_3, Z_4 *und* Z_5 waren bis auf diurnale Schwankungen der Strömungsgeschwindigkeiten keine besonderen Veränderungen zu bemerken. Ganz anders verhielt sich dagegen die *Basalzelle*. Nach 76 Std sank hier die Plasmaströmung etwas ab; im wandständigen Plasma wurden große Vakuolen sichtbar. Viele Plastiden begannen sich zu teilen und *88 Std nach der Infektion entstand in der vom Infektionsort am weitesten entfernten Zelle der erste amorphe X-Körper des Haares überhaupt.*

Fünfte 24-Std-Periode (96.—120. Std). In Z_1 fiel nun unter ebenfalls lebhafter Plastidenteilung (also auch später als in Basalzelle und Z_2) gegen Mitte der Periode die Strömungsgeschwindigkeit des Plasmas bei gleichzeitiger

Abb. 3. Haarzelle mit abnormaler Plastidenteilung. Die dunklen Massen an der linken Wand und die begrenzten Schatten über dem Kern sind außen anhaftendes Drüsensekret. Lebendaufnahme, 250mal. (*TMV flavum*).

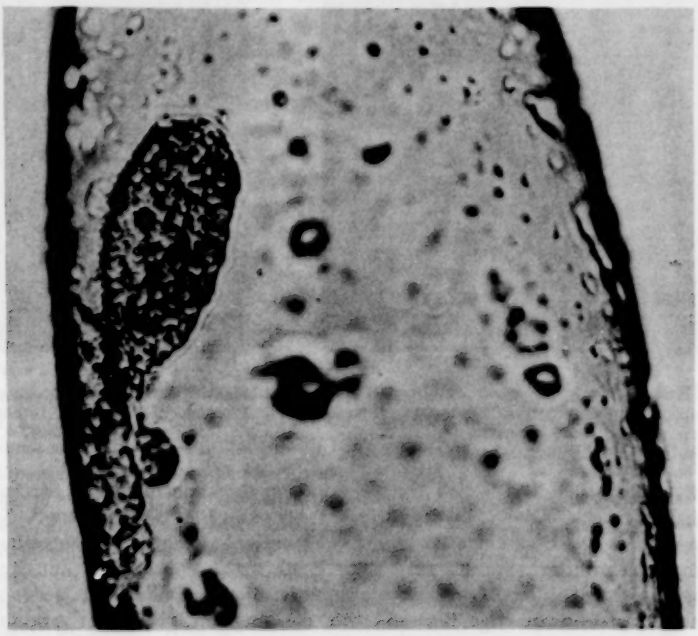


Abb. 4. In den äußeren ruhenden Plasmaschichten verankerter X-Körper (*TMV flavum*). Die „trocken" erscheinende, scharf umgrenzte, granuläre Struktur ist typisch für den Gelbstamm. Lebendaufnahme, Wasserimmersion, 700mal.

Vakuolisierung langsam bis auf 5 μ/sec ab. In den vakuolisierten Strängen wurden viele zerstörte Plastiden und isolierte Stärkekörner sichtbar. Die Kernhypertrophie war besonders deutlich. In Z_2 wurden im stark vakuolisierten Plasma Strömungsgeschwindigkeiten um 5 μ/sec gemessen, und nach 104 Std tauchte das erste hexagonale Kristallplättchen auf (Abb. 5).

In Z_3 teilten sich nach 108 Std bei verlangsamter Strömung im wandständigen Plasma viele Plastiden.

In Z_4 waren bis auf Kernhypertrophie und breite strömende Plasmamassen keine Veränderungen zu bemerken.

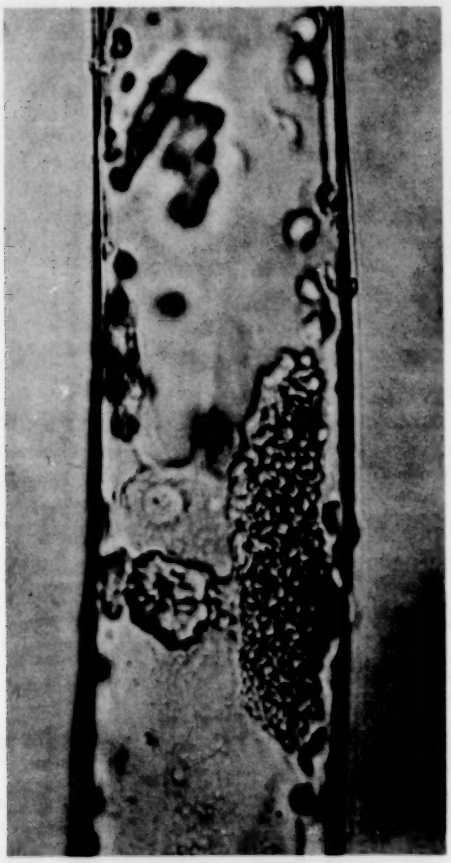


Abb. 5. Haarzelle mit langgestrecktem X-Körper, hypertrophiertem Kern und Nucleolus, prismenförmigen und rosettenartigen Kristallen. Lebendaufnahme, 540mal. (*TMV flavum*).

Abb. 6. Haarzelle mit hexagonalen Platten im Hellfeld. Lebendaufnahme, 400mal.

In Z_5 begann nach 101 Std Plastidenteilung bei relativ hohen Strömungsgeschwindigkeiten, die dann langsam abfielen, bis nach 105 Std der erste X-Körper sichtbar wurde. Die Plastidenteilung und -degenerierung schritt bei abnehmenden Strömungsgeschwindigkeiten bis zum Ende der Periode lebhaft fort. Zunehmende Vakuolisierung einzelner Plasmastränge konnte direkt beobachtet werden. Es bildeten sich perlschnurartige Blasenketten, die langsam ihre Form veränderten, sich vergrößerten und sich mit anderen Gebilden vereinigten, bis Teile der Zelle mit wabenartigen Netzen durchspannt waren. Nach einiger Zeit verschwanden sie wieder und bildeten sich in anderen Zellbezirken neu.

Zur gleichen Zeit sank in der *Basalzelle* die Strömungsgeschwindigkeit auf 5 μ/sec ab, um gegen Ende der Periode wieder anzusteigen. Der hypertrophierte Zustand des Kernes hatte sich nicht geändert.

Sechste 24-Std-Periode (120.—144. Std). In Z_1 weitere Plastidendegenerierung bei geringer Plasmaströmung. In Z_2 stieg die Strömungsgeschwindigkeit erst gegen Ende der 24-Std-Periode wieder an, das Plasma strömte aber nur in schmalen, normal anmutenden Strängen durch die Vakuole. Der X-Körper schien seine Lage in der Nähe der linken Zellwand nicht zu verändern. Einige neu aufgetauchte hexagonale Kristallplatten bewegten sich in schon korrodiertem Zustand langsam im wandständigen Plasma umher.

In Z_3 war nach 133 Std ein kleiner X-Körper (12 μ in der längsten Achse) entstanden. Die Plastidenteilung ging bei starker Vakuolisierung des Plasmas weiter. Kern und Nukleolus erschienen in dieser Zelle besonders hypertrophiert.

In Z_4 wurden weiterhin hohe Strömungsgeschwindigkeiten gemessen (bis 12 μ/sec).

In Z 5 erschienen nach 123 Std in kurzer Aufeinanderfolge mehrere große hexagonale Kristallplatten (Abb. 6).

Von diesem Zeitpunkt an überschritt die Strömungsgeschwindigkeit des Plasmas in dieser Zelle 5 μ/sec bis zum Versuchsende nicht mehr.

In B wurde nach 142 Std ein zweiter großer X-Körper sichtbar. Er bildete sich unmittelbar neben dem zuerst entstandenen.

Siebte 24-Std-Periode (144.—168. Std). In Z_1 waren nach 154 Std mehrere langgestreckte und einige kubische Prismen entstanden.

In Z_2 herrschten geringe Strömungsgeschwindigkeiten (nicht über 6 μ/sec). Im rotierenden Plasma wurden kleinere Kristalle mitgeschleppt; nur wenige Plastiden von normaler Größe waren zu finden.

In Z_3 hatte das wieder schneller strömende Plasma nach 163 Std in einzelnen Strängen wieder eine Geschwindigkeit von fast 10 μ/sec erreicht, welche aber danach wieder unter erneuter Plastidenteilung abfiel.

In Z_4 bei lebhaft strömendem Plasma und hypertrophiertem Kern einige Plastidenteilungen.

In Z_5 erschienen einige Kristallplatten korrodiert, andere gewachsen. Im Wandplasma war eine große Anzahl winziger Kriställchen zu beobachten. Geringe Strömungsgeschwindigkeiten. In *B* machten bei sehr schwachen Strömungsgeschwindigkeiten Plasma, Kern und Nucleolus wieder einen normalen Eindruck. Die noch intakten Plastiden waren in ihre Funktionslagen mit relativ regelmäßigen Abständen zurückgekehrt.

Achte 24-Std-Periode (168.—192. Std). Am 8. Versuchstage konnten weder in Z_1, Z_2, Z_5 noch *B* auffallende Veränderungen der Zellzustände bemerkt werden.

In Z_3 bildeten sich nach 169 Std weitere kleinere und zerrissene Körper, deren Entstehung unter dem Mikroskop verfolgt werden konnte. In Kernnähe massierte amorphe Massen lösten sich langsam voneinander, ihre Oberfläche nahm im Moment der beginnenden Bewegung ein völlig anderes Aussehen an als die der Substanz, aus der sie entstanden waren. Sie erschienen jetzt trocken und körnig, während die vorher am Kern gestauten Massen einen schleimigen Eindruck gemacht hatten. Im Laufe von 7 Std waren 3 differenzierbare Einschlußkörper entstanden.

In Z_4 waren bei Strömungsgeschwindigkeiten um 10 μ/sec weitere Plastidenteilungen zu beobachten.

Neunte 24-Std-Periode (192.—216. Std). In dieser Periode war nur noch das Plasma in Z_4 in lebhafter Bewegung bei Strömungsgeschwindigkeiten von 10 μ/sec

In Z_3 waren nach 209 Std in den Strängen des vakuolisierten Plasmas kleine Kristallplättchen zu sehen. In sämtlichen übrigen Zellen konnten keine weiteren Veränderungen wahrgenommen werden. Die Geschwindigkeit ihrer Plasmaströmung unterschied sich kaum von der der Kontrollhaare. Sie lag zu manchen Zeiten noch etwas tiefer. Der Zustand des Plasmas unterschied sich jedoch von dem der Kontrollen durch stärkere Quellung.

Besprechung der Ergebnisse. Der Versuch entsprach also im ganzen nicht der ursprünglichen Erwartung, daß sich das Fortschreiten der Virusinfektion in der isolierten Zellkette eines Tabakhaares an der zeitlichen Aufeinanderfolge intraplasmatischer Symptome in den einzelnen Zellen direkt erkennen und beobachten ließe. Im Gegenteil trat der erste X-Körper in der Basalzelle auf, die vom Eintrittsort des Virus am entferntesten lag. In der primär infizierten ersten intakten Spitzenzelle traten 3 Tage später Kristalle auf, während der nächste X-Körper 4 Std nach dem amorphen Einschluß in der Basalzelle gebildet wurde. Der nächste X-Körper wurde einen Tag später in Zelle 5 gefunden und am folgenden Tag einer in Zelle 3, während in Zelle 4 weder amorphe noch kristalline Körper innerhalb der Versuchszeit ausgebildet wurden.

Die Beobachtungen an den übrigen 14 mit gleichen Methoden untersuchten Haaren zeigten ein ebenso ungeregeltes Erscheinen der intrazellulären Symptome, ohne daß ein Infektionsweg zu erkennen gewesen wäre. Drei dieser Haare zeigten bei Versuchsende außer der beschleunigten Plasmaströmung überhaupt keine sichtbaren virusbedingten Symptome, obwohl die Infektion in der Blattepidermis weiterschritt. Sie mußten also von dem Agens durchsetzt worden sein. Neun weitere bildeten, ohne daß eine Folge zu erkennen war, in einigen Zellen Einschlüsse aus, während andere übersprungen zu werden schienen. So waren in 3 Basalzellen solcher Haare (insgesamt also 4 bei 15 Versuchshaaren) Einschlußkörper früher als in allen anderen Teilen zu finden. Selbst in den der Basalzelle benachbarten Epidermiszellen wurden teilweise früher als in einzelnen Haarzellen Einschlußkörper gefunden. Natürlich kann die Möglichkeit zunächst nicht ausgeschlossen werden, daß die einzelnen Zellen in ihrer Empfindlichkeit stark voneinander abweichen und in einigen von ihnen die für die Erkrankung typischen Symptome ausbleiben, obwohl auch sie das krankmachende Agens längst enthalten. Das Gesamtbild, vor allem auch die Tatsache, daß schon 15—20 Std nach der Infektion, wenn der Wundreiz sicher abgeklungen ist, in den Basalzellen usw. abnorm hohe Plasmaströmung herrscht, deutet aber doch weit mehr darauf hin, daß alle bisher beschriebenen, im Mikroskop beobachteten Symptome der Viruserkrankung mehr oder weniger erst Spätfolgen des Virusangriffs sind und darum die primäre Ausbreitung des infektiösen Agens nicht genau anzuzeigen vermögen. Dies würde bedeuten, daß auch die abnorme Ausbildung großer Mengen der STANLEYschen Nukleoproteide, sowie der Einschlußkörper, die ja nach

SHEFFIELD elektronenoptisch nachweisbare TMV-Stäbchen enthalten. erst nach einem Zeitpunkt einsetzt, wenn die Infektion die Zelle längst durchwandert hat. (Vorausgesetzt wird dabei allerdings, daß man nicht etwa nur an eine Reizleitung denkt, die etwa auf enzymatischem Wege immer wieder erneut in einer gereizten Zelle zur spontanen Neubildung von Virusnukleoproteiden führt.) Es war daher unbedingt erforderlich, die bisherigen Beobachtungen bei weiteren Experimenten mit einer gleichzeitigen Prüfung der Infektivität der jeweiligen Zellen und Gewebe zu verbinden. Dazu wurde die Ausbreitung der Infektion in einem ganzen Organ herangezogen. Als solches wurde zunächst das Blatt von *N. tabacum* gewählt.

IV. Die Ausbreitung der Infektion im primär infizierten Blatt.

Über den Weg des TMV in Geweben primär infizierter Blätter werden von vielen Autoren (GOLDSTEIN 1929; SAMUEL 1931, 1934; HOLMES 1932; BENNETT 1940 et mult. al.) Angaben über langsame diffusionsartige Ausbreitung des infektiösen Agens in Epidermis und Parenchymen gemacht. UPPAL (1934) hat die Ausbreitung des TMV im Mesophyll von *N. silvestris* mit 0,0008 cm/sec gemessen, KÖHLER (1947) bestimmte die radiale Verbreiterung der Initialherde vom X-Virus in Blättern von *N. tabacum* mit 0,0012 cm/sec.

HOLMES (1931) beschreibt langsame, nach allen Richtungen gleichmäßige Ausbreitung der Infektionsherde des TMV im Parenchym, der nach Erreichen einer größeren Blattader schnell basalwärts gerichtete Abwärtsbewegung *innerhalb* der Leitbündel folgt. KUNKEL (1939) bestätigte diesen Befund, bestreitet aber die immer gerichtete Abwärtsbewegung des Virus. Seit CALDWELL (1930, 1931) sicher nachgewiesen hatte, daß das TMV nur lebendes Gewebe zu passieren vermag, wurde nach zahlreichen Arbeiten über die Translokation des Curly-top-Virus in Zuckerrübe und Tabak (BENNETT 1934, 1937, 1938) und ESAU (1933, 1941) und des TMV in Tabak (BENNETT 1940) auch die *schnelle* Translokation des TMV im Phloem (vielleicht in den Siebröhren) wahrscheinlich.

Im folgenden wird der Versuch gemacht, das Fortschreiten der Infektion bei einem Blatt von *N. tabacum* durch Testung der Preßsäfte von kleinen Blattproben an *N. glutinosa* zu verfolgen und die Ergebnisse mit einer gleichzeitigen Prüfung der in den Proben mikroskopisch erkennbaren Symptome zu verbinden.

Die kräftigsten Blätter von 12 etwa 40 cm hohen *N. tabacum*-Pflanzen wurden je zur Hälfte mit *TMV vulgare*-Preßsaft (Verdünnung 1:100, Kontrolle >200 Läsionen) und *TMV flavum*-Preßsaft (Verdünnung 1:10, Kontrolle >60 Läsionen) durch Einreiben der ganzen Blattflächen oberseits infiziert. Nach sorgfältigem Abbrausen der Blätter wurden die gesamten Pflanzen 10 min lang in einem großen Wasserbehälter vorsichtig geschwenkt, um die letzten Reste anhaftender Infektionsflüssigkeit zu entfernen. Nach nochmaligem Abbrausen wurde das aufgefangene

Waschwasser auf *N. glutinosa* ausgetestet. Vergleichbare, 2×4 cm messende Blattstücke aus verschiedenen Bezirken der Laminae wurden am ersten Versuchstag stündlich, später alle 2—4 Std ausgeschnitten, im Mörser zerrieben und der 1:1 und 1:50 verdünnte Preßsaft auf *N. glutinosa*-Blatthälften ausgetestet. Proben aus den gleichen Regionen wurden mikroskopisch untersucht. Da die Wundreaktion der abgezogenen Epidermis die differenzierte Beobachtung der Zellzustände außerordentlich erschwerte, wurden nach den ersten Versuchen die Blattstücke nach REGAUD fixiert. Um Täuschungen durch evtl. mögliche Wundreaktionen an den mehrfach angeschnittenen Laminae auszuschließen, wurde von Zeit zu Zeit ein intaktes Blatt submers in Fixierflüssigkeit abgeschnitten und mit den anderen Proben verglichen.

Im folgenden sollen zunächst die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen besprochen werden:

Die mikroskopische Untersuchung der in Zeitabständen fixierten Blattproben im Hellfeld und im Phasenkontrastverfahren ließ überaus unregelmäßige Symptomausbreitung im primär infizierten Blatt erkennen. Vor dem Sichtbarwerden der Primärläsionen in den fixierten Blattstücken ist es allerdings schwierig, die infizierten Stellen mit Sicherheit zu erkennen. In 2 Querschnitten wurden 6 Std nach der Infektion mit *TMV flavum* in Zellen der oberen *und unteren* Epidermis bereits die typischen, breiten, strömenden Plasmabänder infizierter Protoplasten gefunden, so daß in dieser Zeit der Blattquerschnitt durchsetzt worden sein muß. Einzelne Palisadenzellen zeigten Teilungen und Verklumpungen von Plastiden, Symptome, die für die Primärläsionen des Gelbstammes besonders bezeichnend sind. Die ersten Einschlußkörper wurden dann in den *TMV vulgare*-Proben am 3., in den mit *TMV flavum* infizierten Geweben erst am 5. Tag bemerkt. Diese Daten fielen, wie gleich erörtert wird, ungefähr mit dem ersten Nachweis infektiven Stoffes in den entsprechenden Preßsäften zusammen. Mit dem 12. Versuchstag waren infolge der zahlreichen primären Infektionsherde die ganzen Blätter vom Virus durchdrungen und zeigten bereits starke Vergilbungserscheinungen, so daß sich die gesamten Beobachtungen also auf diesen Zeitpunkt beschränkten.

Im einzelnen wurde folgendes beobachtet:

In der oberen Epidermis breiten sich zunächst die Infektionsherde[1] langsam nach allen Seiten aus. Erreichte ein solcher Infektionsbezirk an irgendeiner Stelle die langgestreckten Elemente der über den Bündeln liegenden Epidermiszellen, so änderte sich die Ausbreitungsrichtung. Die Infektion schritt nun parallel zur Blattader meßbar schneller fort, während sie senkrecht dazu in den Raum des Interkostalfeldes nur zögernd weiterrückte. Es konnte zunächst nicht mit Sicherheit festgestellt werden, ob die über den Blattadern liegenden Epidermiszellen

[1] Im weiteren sollen die gesamten Zonen, die auf Grund des Virusangriffs Geschwindigkeitssteigerung der Plasmaströmung und Quellung der Protoplasten zeigten, als *Infektionsbezirke* bezeichnet werden.

schließlich direkt durchquert wurden oder ob das Virus erst nach vollständiger Infektion des darunterliegenden Scheidenparenchyms in die gegenüberliegende Epidermiszone eindrang. Jedenfalls war eine Stokkung in der bisherigen Ausbreitungsrichtung stets zu bemerken, wenn der Infektionsbezirk eine Ader erreichte.

Die weitere mikroskopische Beobachtung zeigte alsdann mehr oder weniger schmale, längs der Blattadern fortschreitende Infektionsbezirke, während die inneren Zonen der Interkostalfelder noch frei von Symptomen sein konnten. Genaue Messungen ergaben, daß sich die Infektionsbezirke in der Epidermis über den Blattadern in der Längsrichtung etwa 5mal schneller als senkrecht dazu ins Innere eines Interkostalfeldes ausbreiten. An kleineren Blattadern in der Nähe des Blattrandes wurde etwa 2,1—6fache Beschleunigung gemessen, während im Bereich des unteren Drittels der Mittelrippe sogar 8,5fache gefunden wurde. Weiterhin konnte festgestellt werden, daß sich die Infektionsbezirke offenbar basipetal schneller ausbreiteten als in Richtung zu den Blatträndern. Es wird später davon noch die Rede sein, wieweit dabei die unter der Epidermis liegenden parenchymatischen Scheidenzellen eine Rolle spielen.

Ein Übersichtsbild der Infektionszonen in der oberen Epidermis zeigt in diesem Stadium also durch die bevorzugte Ausbreitung längs der Blattadern ein unregelmäßiges, netzartiges Aussehen (besonders deutlich mit der Jodmethode). Innerhalb der Interkostalfelder schließen sich die befallenen Bezirke nur sehr langsam, ein Vorgang, der in den mit Gelbstamm infizierten Blättern im UV-Licht gut zu verfolgen war. Während hier nämlich das Chlorophyll der virusfreien Zonen rot leuchtete, fluoreszierten die befallenen Stellen gar nicht oder schwach bläulich (nach Best 1947, Chlorophyll-Löschung und Freisetzung von Scopoletin). Die nicht fluoreszierenden Stellen hatten im allgemeinen eine stumpf olivgrüne Farbe.

Sehr bezeichnend war die Verbreitung der X-Körper bei fortschreitender Infektion im primär infizierten Blatt. Sie bildeten sich entsprechend den Beobachtungen an Haaren wieder keineswegs in jeder Zelle, sondern erschienen einzeln und in Gruppen unregelmäßig verstreut. Als ihre fortlaufende Bildung innerhalb engerer Ausbreitungszonen sowohl in der Epidermis wie im Mesophyll verfolgt wurde, zeigte sich, daß sie meist dort in größeren inselförmigen Gruppen auftraten, wo sich verschiedene Infektionszonen einander näherten und schließlich schlossen. Das war besonders häufig in den Interkostalfeldern unweit der von den Blattadern gebildeten Winkel zu beobachten. Einzeln waren sie jedoch auch über die gesamte Epidermis verstreut zu finden.

Kristalline Einschlüsse, die ja meist erst nach den amorphen X-Körpern gebildet werden, waren innerhalb der Versuchszeit vorwiegend in

den äußeren Haarzellen und den Nebenzellen der Spaltöffnungen zu finden. Einige Zeit später traten sie in allen Geweben in großer Anzahl auf.

Die *Spaltöffnungen* und ihre Nebenzellen zeigten erst vom 7. Tag nach der Infektion Anzeichen von Symptomen, die sich aber dann besonders schnell und heftig entwickelten. Oft wurden zunächst kleine X-Körper in den Schließzellen sichtbar. Einige Tage später erschienen

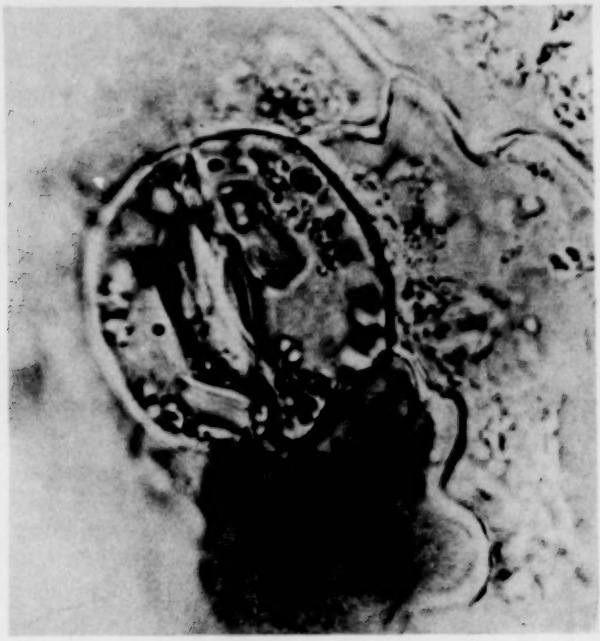


Abb. 7. Spaltöffnung mit zerfallenden Chloroplasten, isolierten Stärkekörnern und fein gestreiften blockförmigen Kristallen. Das Präparat wurde in eine Neutralrotlösung gelegt, und nur eine einzige, noch symptomlos erscheinende Nebenzelle wurde angefärbt. Lebendaufnahme im Hellfeld, 600mal.

fast gleichzeitig in Schließ- und Nebenzellen große Prismen und Rhomboeder (Abb. 7).

Die meisten Chloroplasten der Schließzellen entarteten, indem sie anschwollen und dann ein zerklüftetes Aussehen erhielten. Stärke wurde im Überfluß gebildet und, wie Untersuchungen an lebenden Blättern bewiesen, im Dunklen nicht mehr abgebaut. Einzelne Stärkekörner lagen neben den zerfallenden Chloroplasten im zuletzt sehr viskos erscheinenden Plasma. Die Spalten waren dann geschlossen und die Schließzellen anscheinend funktionsunfähig geworden. Häufig waren große Teile des Zellumens von dichten, kristallin erscheinenden Massen angefüllt (Abb. 8), in denen noch Reste von Plastiden schwach im UV-Licht nachweisbar waren.

Die außergewöhnlich großen Kristalle der Nebenzellen sind in Abb. 8 dargestellt. Die Nebenzellen verhielten sich im Krankheitsbild ähnlich wie die Schließzellen, während die unmittelbar benachbarten anderen Elemente der Epidermis zur gleichen Zeit noch keine oder wenig kristalline Einschlüsse aufwiesen.

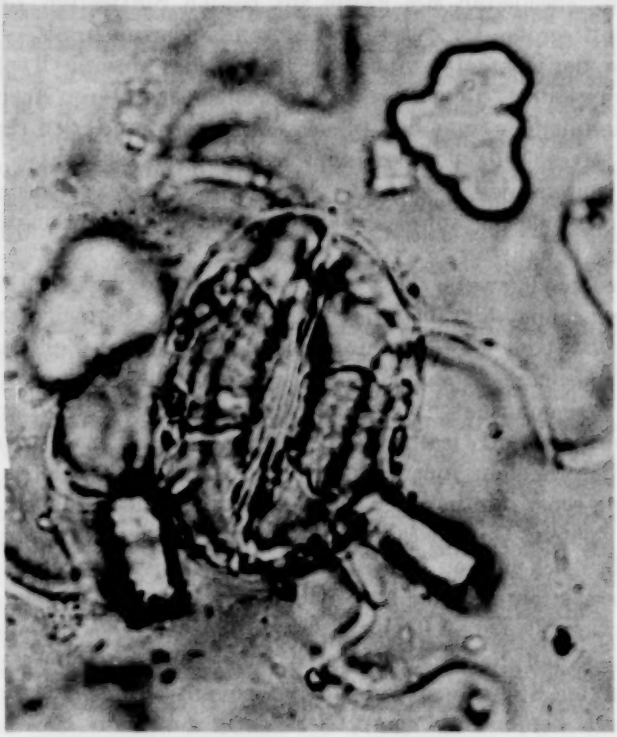


Abb. 8. Spaltöffnung der unteren Epidermis, die durch mächtige Kristallbildung außer Funktion gesetzt wurde. In den Kristallmassen der Schließzellen konnte im UV-Licht noch schwache Chlorophyllfluoreszenz festgestellt werden. Lebendaufnahme im Hellfeld, 700mal.

Die Haare der oberen Epidermis, die allerdings zum großen Teil durch das Einreiben mit Preßsaft zerstört worden waren, ließen vielfach, wenn sie nicht direkt infiziert wurden, deutlich die polare Infektionsrichtung von der Basis zum Sproß, also in umgekehrter Richtung wie in den vorstehend beschriebenen Versuchen, erkennen. In den Drüsenköpfchen und den relativ chlorophyllarmen oberen Zellen der Haare traten neben gelegentlichen kleinen zerklüfteten X-Körpern frühzeitig Kristalle auf, während in den Basalzellen meist erst etwas später regelmäßige X-Körper ausgebildet wurden, die bei *TMV flavum* einen Durchmesser bis zu 60 μ erreichten. Auch hier wiederholte sich

also die schon früher beschriebene Erscheinung, daß Zellen, durch die der Infektionsstrom frühzeitig hindurchgegangen sein mußte, später X-Körper bildeten als die zuerst erreichten.

In der unteren Epidermis erschienen, obwohl nur oberseits infiziert worden war, die Symptome sehr rasch, und die Grenzen der Primärläsionen unterschieden sich kaum auf beiden Blattseiten, obwohl die Durchschnittsgröße der Zellen der unteren Epidermis um $^1/_3$—$^1/_2$ kleiner war als die der Oberseite. Anscheinend wird das Mesophyll sehr schnell quer durchwandert, denn die seitliche Grenze der unteren Ausbreitungszone schien immer von der oberen Epidermis und den dazwischen liegenden Mesophyllzellen bestimmt zu sein.

Sonst unterschieden sich die Symptome wenig von denen in der oberen Epidermis bis auf die Spaltöffnungen, die ihre Funktionsfähigkeit länger bewahrten.

Im Mesophyllgewebe des Blattes interessierte natürlich besonders die Untersuchung der Blattadern. Längs- und Querschnitte zeigten, daß zunächst (vom 4.—7. Versuchstag) die sehr langen Zellelemente des Bündel*scheidenparenchyms* innerhalb *geschlossener* Infektionszonen außer erhöhten Strömungsgeschwindigkeiten des Plasmas keine charakteristischen Symptome aufwiesen. Nach diesem Zeitraum traten aber in den meisten dieser Zellen innerhalb von 24 Std große kristalline Prismen auf, wie sie sonst nur in den Nebenzellen der Spaltöffnungen gefunden werden. Spätere Untersuchungen mit dem Phasenkontrastmikroskop zeigten, daß sich in den benachbarten Epidermiszellen eben beschleunigte Plasmaströmung und Plasmaquellung erkennen ließen, wenn in den Scheidenzellen bereits Kristalle auftraten. Dies scheint darauf hinzudeuten, daß die Ausbreitung im Scheidenparenchym rascher verläuft als in den Epidermiszellen und diese eventuell erst von der Scheide her infiziert werden könnten. Gleichzeitig mit dem Sichtbarwerden der Kristalle im Scheidenparenchym begann auch im Xylem- und Phloemparenchym die Plasmaströmung anzusteigen, ein deutliches Zeichen, daß nunmehr die Infektion auch in das Innere des Bündels eingedrungen war. Bald darauf erschienen dann auch hier einzelne X-Körper. Dies war jedoch erst am 9. Tag nach der Infektion verstärkt der Fall. Wie in der Epidermis breitet sich auch im Bündelparenchym die Infektion in beiden Richtungen aus. Doch ist auch im Scheidenparenchym die basale Ausbreitung gefördert. *Niemals wurden aber irgendwelche mikroskopisch erkennbare Symptome innerhalb funktionsfähiger Siebröhren selbst und deren Geleitzellen gefunden*, was schon hier ganz besonders betont werden soll, da es sich bei den Siebröhren ja um die besonderen Leitbahnen handelt, die für die schnelle Fernverbreitung des Virus in Frage kommen dürften. Es wird darauf noch später zurückzukommen sein. In den einzelnen Siebröhrensträngen von 9 Tage

und länger infizierten Blattstücken traten allerdings in Kontrollen nicht bemerkte, mächtige Kallusbildungen auf, die diese Stränge zu verstopfen schienen und sich im Gegensatz zu Kalli gesunder Blätter mittels der FEULGENschen Reaktion rötlich färbten. Da die Blätter zu diesem Zeitpunkt schon starke allgemeine Schädigung zeigten, kann jedoch nicht mit Bestimmtheit gesagt werden, ob es sich hier allein um eine virusbedingte Erscheinung handelt. Es sei aber in diesem Zusammenhang erwähnt, daß in *Cucurbita maxima*-Blättern nach Infektion mit TMV in Mittelrippe und Blattstiel noch ausgeprägtere abnormale Kallusverstopfungen beobachtet werden konnten, die vielleicht darauf hindeuten, daß in diesen Organen eine Abwehrreaktion gegen den Transport giftiger Produkte stattgefunden haben mag. Spuren von infektiösem Stoff wurden noch in den Blattstielen von *Cucurbita maxima* einwandfrei nachgewiesen, während der Stengel immer virusfrei erschien.

Der Blattstiel der Tabakblätter zeigte ähnliche Erscheinungen wie die Blattrippen. In den Bündelparenchymen waren erst sehr spät Symptome nachzuweisen, auch wenn die erste Primärläsion unmittelbar am basalen Blattende gelegen war. Wiederum waren intraplasmatische Veränderungen in den Bündelparenchymen erst dann zu erkennen, wenn die Scheidenzellen schon Kristallbildung zeigten.

Zusammenfassend kann also aus diesen mikroskopischen Beobachtungen geschlossen werden, daß sich die Infektion in einem Blatt zunächst ungerichtet ausbreitet, daß aber nach Erreichen der Blattnerven doch eine Beschleunigung in basipetaler Richtung einsetzt. Sorgfältige Messungen der Zellgrößen[1] innerhalb einzelner Infektionsbezirke ergaben, daß die Ausbreitung immer in Richtung der längeren Zellelemente schneller fortschreitet. Nach Erreichen einer Blattader zeigen sich Beziehungen zwischen der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Infektion und der relativen Länge der befallenen Zellen besonders deutlich. Die Infektionszone folgt nunmehr einem solchen Blattnerv nach *beiden* Richtungen, die Beschleunigung der Ausbreitung basalwärts (also in Richtung zunehmender Zellängen) ist aber klar erkennbar. Die relative Größe der Zellen ist demnach ein Faktor, der für die Mechanik der Virusausbreitung zur Diskussion gestellt werden muß. Die Zellen der subepidermalen Bündelscheiden scheinen vor allem hier eine besondere Rolle zu spielen. HOLMES (1932) hat eine begrenzte Periode verlangsamter Ausbreitungsgeschwindigkeit des TMV im Augenblick des Erreichens eines Blattnervs festgestellt, der dann schnelle Weiterleitung des infektiven Agens *innerhalb* des Nervs folgte, während es nur zögernd und ungleichmäßig an die lateral nach außen angrenzenden

[1] Über die Mechanik der Ausbreitung des TMV in den verschiedenen Geweben primär und sekundär infizierter Blätter soll a. a. O. berichtet werden.

Gewebe abgegeben wurde. In vorliegenden Untersuchungen wurde festgestellt, daß die Infektion innerhalb der Zellenzüge der Leitbündelscheide schnell fortschritt, daß das infektiöse Agens aber an die innerhalb der Scheide gelegenen Leitgewebsparenchyme noch zögernder abgegeben wurde als an die benachbarten Epidermis- und Mesophyllzellen. Erst wenn sich in dem Bündelscheidenparenchym große, für diese Zellart typische kristalline Einschlußkörper zeigten, konnten intrazelluläre Veränderungen im benachbarten Phloem- und Xylemparenchym bemerkt werden. Man könnte geradezu von einer partiellen Speicherungsfähigkeit der Bündelscheidenparenchyme (und vielleicht auch der Stomata-Nebenzellen) sprechen, die das infektiöse Agens erst nach einer gewissen Anreicherung an andere Gewebe abzugeben scheinen. Über eine eventuelle Leitung in den Siebröhren kann beim Fehlen deutlicher Symptome noch nichts ausgesagt werden.

In zeitlicher Hinsicht wurden die ersten Symptome (breite Plasmabänder) bereits 6 Std nach der Infektion in beiden Epidermen gesehen. Die ersten X-Körper erschienen nach der Infektion mit dem Stamm *vulgare* nach 3, mit *flavum* nach 5 Tagen. In den Spaltöffnungen wurden sie erst am 7. Tage, im Leitbündelparenchym erst vom 9. Tage ab gesehen. Kristallbildung setzte wiederum meist erst nach Ausbildung von X-Körpern ein. In absoluten Maßen würde sich, wenn man die mikroskopisch erkennbare Grenze einer Infektionszone nach einer bestimmten Zeit als Maß für die Virusausbreitung annehmen will, für die Epidermiszellen der Interkostalfelder eine Ausbreitungsgeschwindigkeit von 0,018 cm/Std, für die Epidermiszellen über den Blattadern eine solche von 0,0378 cm/Std und für das Scheidenparenchym 0,81 cm/Std errechnen lassen. Benutzt man als Geschwindigkeitsmaß den im Phasenkontrastmikroskop feststellbaren zeitlichen und räumlichen Abstand zwischen einem eben fertig ausgebildeten Einschlußkörper und der beginnenden Neuformierung eines solchen in einer Nachbarzelle, dann erhält man jedoch wesentlich geringere Werte, die für die Zellen der oberen Epidermis innerhalb der Interkostalfelder durchschnittlich 0,0015 cm/Std und für die langen Epidermiszellen über dem basalen Drittel der größeren Seitennerven 0,0031 cm/Std betragen. Diese Werte stehen größenordnungsmäßig in Übereinstimmung mit den Berechnungen von KÖHLER (1947) für die Ausbreitung des X-Virus (0,0012 cm/Std). Doch erscheint es aus gleich ersichtlichen Gründen als fraglich, ob solche Messungen an Symptomen überhaupt die wirkliche Ausbreitungsgeschwindigkeit des krankheitserzeugenden Agens richtig wiedergeben.

Mit diesen mikroskopischen Beobachtungen sollen nun im folgenden die Ergebnisse der Infektivitätsteste verglichen werden. In Tabelle 2 sind die Befunde eines sich über 10 Tage erstreckenden Versuchs

Tabelle 2. *Zahl der Lokalläsionen auf N. glutinosa, die durch Preßsaft von infizierten Blattspreiten in wechselnden Zeitabständen nach der Infektion erzeugt werden.*

Virusstamm	Höchste Tagesanzahl der Lokalläsionen auf N. glutinosa											
	W I	W II	UwK	Tag								
				1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Vulgare . .	18	0	43	0	0	2	16	38	54	63	113	> 200	> 200
Flavum . .	4	0	7	0	1	1	3	7	28	22	> 50	82	77

Rubrik W I: Anzahl der vom aufgefangenen Wasser des 1. Abbrausens erzeugten Lokalläsionen. Rubrik W II: Anzahl der vom aufgefangenen Wasser des 2. Abbrausens erzeugten Lokalläsionen. Rubrik UwK: Anzahl der vom Preßsaft eines ungewaschenen Blattes unmittelbar nach der Infektion erzeugten Lokalläsionen.

niedergelegt. Die Zahlen drücken den höchsten erreichten Einzelwert der an dem entsprechenden Tag bei sämtlichen Proben erzeugten Lokalläsionen aus.

Pflanzen, die mit dem Gelbstamm infiziert worden waren, zeigten trotz stärkerer allgemeiner Schädigung geringeren Virusgehalt als *TMV vulgare*-kranker Tabak (Melchers u. a. 1940). Dieses Verhältnis kommt als unterschiedliche Infektionskraft beider Stämme in der Tabelle klar zum Ausdruck. Weiter ließen sich während des 1. und vorwiegend auch während des 2. Tages mit dem *N. glutinosa*-Test aus den infizierten Blattproben keine isolierbaren infektiven Substanzen nachweisen, obwohl das Waschwasser I und die ungewaschenen Blattproben Lokalläsionen erzeugten. Dieses Ergebnis erschien so auffällig, daß später eine Reihe weiterer gleichartiger Versuche angesetzt wurde, in denen alle 2 Std der Preßsaft ganzer Blätter auf *N. glutinosa* und *Phaseolus vulgaris* übertragen wurde, ohne daß jedoch die Proben der ersten 26 Std eine Lokalläsion erzeugt hätten. Gleichzeitig mit denselben Preßsäften inokulierte junge Tabakpflanzen blieben ebenfalls gesund bis auf eine, bei der die Möglichkeit einer Spontaninfektion nicht ausgeschlossen war. Vom 4. Versuchstag an nahm jedoch jedesmal die Infektivität der gleichen oder gleichzeitig inokulierten Blätter progressiv steil zu. Die hohe Anzahl der vom Gelbstamm erzeugten Lokalläsionen am 8. Versuchstage zeugt für die ursprüngliche Dichte der initialen Infektionsorte im primär infizierten Blatt, so daß die Erscheinung kaum allein quantitativ durch die für den Test zu geringe Menge des eingedrungenen Virus erklärt werden kann. Vielmehr deutet alles darauf hin, daß mit den eindringenden Virusteilchen zunächst eine Veränderung vor sich geht: Werden sie unmittelbar nach der Inokulierung oder *während einer 24 Std wenig überschreitenden Zeitspanne wieder isoliert, vermögen sie keine neue Infektion hervorzurufen. Erst nach einer bestimmten Inkubationszeit, deren Dauer von der Virulenz des TMV-Stammes*

und den jeweiligen inneren und äußeren Umständen der Wirtspflanzen abhängig ist, kann die infektive Form wieder im Preßsaft nachgewiesen werden.

Diese Befunde verstärken nun aber den schon aus der Beobachtung der Haarzellen geschöpften Verdacht, daß die mikroskopisch erkennbaren Symptome, vor allem die verstärkte Bildung abnormer Mengen von infektiösen Nukleoproteiden, wie sie wohl auch in der Bildung von X-Körpern zum Ausdruck kommt, nicht die primären Vorgänge der Infektionsausbreitung erfaßt, sondern daß eventuell im isolierten Zustand nicht infektive Vorstufen des Virusnukleoproteids oder sonstige Stoffe die eigentliche Verbreitung der Erkrankung bewirken. Die nähere Verfolgung der Vorgänge an anderen Organen, wie sie in den folgenden Abschnitten geschildert wird, soll dazu weiteres Material bringen.

V. Die Einwanderung des TMV aus einem primär infizierten Blatt in die Wurzel.

Nach den in der Literatur vorhandenen Angaben (SAMUEL 1934; KUNKEL 1939; CAFOOR 1949 u. a.) kann kein Zweifel sein, daß gelegentlich sehr rasche Fernverbreitungen einer Virusinfektion durch den ganzen Pflanzenkörper vorkommen. Besonderes Interesse verdienen die Befunde, daß hierbei gewisse Organteile völlig frei von nachweisbar infektiven Stoffen bleiben, obwohl sie zweifellos von dem virösen Agens durchwandert worden sind. Zur Nachprüfung und Festigung dieser wichtigen Beobachtungen wurden zunächst die Verhältnisse bei der sekundären Infektion der Wurzeln, d. h. bei der Einwanderung des Virus aus einem primär infizierten Blatt in eine Wurzel geprüft.

16 N. tabacum-Pflanzen, Sorte Maryland, von durchschnittlich 35 cm Stammhöhe aus Gewächshausanzuchten wurden je zur Hälfte mit *TMV vulgare*-Preßsaft am 4. Blatt über dem Rhizom und zur anderen Hälfte am 18. Blatt in der Nähe der Vegetationsspitze durch Einreiben der ganzen oberseitigen Blattflächen infiziert. Nach 11 Tagen wurden die Pflanzen entblättert und die Stengel von der jeweiligen Insertionshöhe der infizierten Blätter bis zur Wurzel in Teile zerschnitten und die daraus hergestellten Preßsäfte auf *N. glutinosa* ausgetestet.

Die Teile der Gruppe I waren folgende: 1. Die Blattstiele der primär infizierten Blätter (Bst). 2. Die zugehörigen Nodien samt Internodien in absteigender Richtung (N+I). 3. und 4. Zwei Stengelsegmente je Pflanze bis zum Rhizom (S_1 S_2). 5. Rhizom (Rh). 6. Wurzel (W). S_1 mittlere Länge = 3,8 cm. S_2 mittlere Länge = 3,5 cm. Rh mittlere Länge = 3,2 cm. Tabelle 3 zeigt die Resultate.

Während bis zum 11. Tag sämtliche Blattstiele bis auf den einer offenbar nicht infizierten Pflanze (Nr. 4) infektiv waren und die Preßsäfte der dazugehörigen Internodien im Stengel bis auf Nr. 7 einige Lokalläsionen zeigten, konnte im 1. Stengelsegment nur noch bei drei Pflanzen Infektivität nachgewiesen werden. Segment 2 und Rhizom reagierten bei sämtlichen Proben auf den Glutinosatest negativ. Dagegen

zeigten die Wurzelpreßsäfte der gleichen Zeit verhältnismäßig sehr hohe Infektivität.

Dasselbe zeigte auch der 2. Versuch, bei dem die Infektionsquelle nahe der Sproßspitze lag. Seine Ergebnisse sind in Tabelle 4 niedergelegt.

1. Blattstiele der primär infizierten Blätter (Bst). 2. Nodium und Internodium 18 (N+I 18). 3. Internodium 19 (I 19). 4. Internodium 17 (I 17). 5.—8. Der Rest des Stengels wurde in 4 Segmente zerschnitten (S_1—S_4). Nodium und Internodium 18: mittlere Länge 1,4 cm. Internodium 19: mittlere Länge 1,2 cm. Internodium 17: mittlere Länge 3,2 cm. S_1—S_4: mittlere Länge 6,7 cm. Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse.

Tabelle 3. *N. tabacum-Stengel, Anzahl der Lokalläsionen auf N. glutinosa (aufgerundete Mittelwerte).*

Nr. der Versuchspflanze	Blattstiel	N+I	S_1	S_2	Rh	W[1]
1	17	8	2	0	0	>30
2	6	2	0	0	0	23
3	20	5	0	0	0	16
4	0	0	0	0	0	0
5	34	12	0	0	0	>50
6	15	1	1	0	0	0
7	7	0	0	0	0	4
8	13	9	2	0	0	>50

Trotz der verschiedenen Insertionshöhe (18—20 cm Höhendifferenz) der primär infizierten Blätter in dieser Versuchsgruppe zeigten wieder die Wurzeln bis auf die der Pflanzen 1 und 5 hohe Infektivität, welche die der Blattstiele meist übertraf. Das infektiöse Agens mußte also beide Strecken in einer so kurzen Zeit zurückgelegt haben, daß sie in dieser Versuchsanordnung nicht erfaßt werden konnte. Dagegen war die Infektion innerhalb des Stengels um die Nodien der primär infizierten Blätter meist nach abwärts und aufwärts stärker fortgeschritten als in der gleichzeitig infizierten 1. Versuchsgruppe.

Tabelle 4. *N. tabacum-Stengel, Anzahl der Lokalläsionen auf N. glutinosa.*

Nr. der Versuchspflanze	Blattstiel	N+I 18	I 19	I 17	S_1	S_2	S_3	S_4	Rh	W
1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	27	32	2	6	0	0	0	0	0	>50
3	15	8	15	11	2	4	1	0	0	>20
4	14	12	0	4	1	0	0	0	0	>30
5	9	2	5	0	0	0	0	0	0	0
6	16	0	20	19	6	1	0	0	0	13
7	6	1	0	0	0	0	0	0	0	10
8	15	5	3	17	7	0	0	0	0	>50

Die mikroskopische Untersuchung an gleichzeitig infizierten vergleichbaren Pflanzen beider Versuchsgruppen zeigte in Schnitten durch den Stiel des primär infizierten Blattes die gewöhnlichen Kristalle im

[1] Die große Anzahl der Lokalläsionen aus den Wurzelproben war in den meisten Wurzelversuchen schlecht auszuzählen, da die Läsionen ineinander übergingen. Daher wurden in solchen Fällen Schätzungswerte eingetragen.

Scheidenparenchym, Kristalle und X-Körper in der Epidermis und *vereinzelte* X-Körper im Phloemparenchym. Diese Symptome waren längs der Blattspuren in das Nodium hinein zu verfolgen. Die Stengelschnitte aber ließen schon in nächster Nähe des Nodiums keine auffallenden Erscheinungen innerhalb der Bündelparenchyme mehr erkennen. Dagegen zeigten Epidermis und Rinde *ausschließlich* auf der Seite des primär infizierten Blattes in basipetaler und akropetaler Richtung noch schmale, lange Infektionsbezirke mit vielen amorphen X-Körpern in Nodiumnähe und den üblichen Zonen mit beschleunigter Plasmaströmung und Kernhypertrophie in größerer Entfernung (maximal etwa 5 cm von der Insertion des primär infizierten Blattes aus gerechnet). Diese Infektionszonen breiteten sich in basipetaler wie akropetaler Richtung in augenscheinlich sehr schmalen Streifen aus, die wiederum durch die Zellformen der Stengelparenchyme bestimmt schienen. Die basalwärts verlaufenden Streifen waren länger als die in Richtung zur Sproßspitze. In den Zellen des Scheidenparenchyms dagegen konnten zu diesem Zeitpunkt der Infektion weder in Quer- noch in radialen und tangentialen Längsschnitten auffallende Veränderungen mit Sicherheit festgestellt werden. Die Ausbreitung ging also wahrscheinlich zunächst nur in Epidermis- und Rindenparenchym vor sich. Derartige Infektionszonen waren besonders gut im UV-Licht zu lokalisieren, da sie im Gegensatz zu gesundem Gewebe wiederum Fluoreszenzlöschung zeigten. Diese Fluoreszenzlöschung in den viruskranken Zellen ist um so auffallender, als meist noch viele intakte Chloroplasten vorhanden sind. Wohl aber fluoreszierte eigenartigerweise das Chlorophyll in den Plastidenresten wieder, die in amorphen X-Körpern und besonders in den kristallinen Massen der Schließzellen eingeschlossen waren. Die Untersuchung aller Elemente der Wurzel im lebenden und fixierten Zustand ließ im Vergleich zu Wurzelpräparaten gesunder Kontrollen nur auffallende Korrosion der Stärke besonders im Rindenparenchym erkennen. X-Körper oder Kristalle konnten von mir nicht beobachtet werden.

Um nun den frühesten Zeitpunkt des Infektivwerdens der Wurzeln erfassen und die vom Virus innerhalb einer bestimmten Zeit zurückgelegte Entfernung abschätzen zu können, wurden nunmehr 25 etwa 30 cm hohe und 25 etwa 55—60 cm hohe Tabakpflanzen an Blättern verschiedener Insertionshöhen durch ausschließliches Einreiben der Blattspitzen oberseits infiziert. Vom 7. Infektionstage an wurden täglich von 5 vergleichbaren Pflanzen Blattstiele und Wurzeln auf die in früheren Versuchen beschriebene Art getestet.

Tabelle 5 zeigt die Resultate.

Aus Tabelle 5 wird ersichtlich, daß am 7. Tag erst eine Wurzelinfektion in der Pflanzengruppe mit primär infizierten Blättern niedrigerer

Insertionshöhe nachzuweisen war. Am 8. Tag zeigten allerdings schon 2 Wurzeln beträchtliche Infektivität, die im Falle von V_2 auch gleichzeitig im Blattstiel zu finden war. Am 9. Tag waren 4 Wurzeln der ersten und 3 der zweiten Versuchsgruppe infiziert, von denen die der zweiten Gruppe mit primär infizierten Blättern hoher Insertion größere Infektionskraft bewiesen. Dieser Befund mag mit den größeren

Tabelle 5. *N. tabacum, Anzahl der Lokalläsionen auf N. glutinosa.*

Tg	Og	V_1	V_2	V_3	V_4	V_5	IH cm
7	Bst	0	0	0	2	0	15—20
	W	0	0	5	0	0	
	Bst	0	14	0	0	0	50—55
	W	0	0	0	0	0	
8	Bst	0	1	0	0	0	15—20
	W	0	0	0	0	0	
	Bst	6	0	0	0	23	50—55
	W	0	0	>20	0	12	
9	Bst	0	0	1	0	1	15—20
	W	5	0	12	17	6	
	Bst	8	15	0	3	5	50—55
	W	>20	>20	0	0	>30	
10	Bst	0	19	3	0	0	15—20
	W	22	>50	16	0	6	
	Bst	0	22	8	32	2	50—55
	W	11	>50	7	>50	18	
11	Bst	13	12	3	35	3	15—20
	W	>50	4	0	>30	>20	
	Bst	15	10	2	0	27	50—55
	W	>20	>50	>20	2	>50	

Tg = Tag nach der Infektion; Og = Organteil (Bst = Blattstiel, W = Wurzel); V_1—V_5 = Versuchspflanzen; IH = Insertionshöhe der primär infizierten Blätter.

Längen und dem höheren Alter der Blätter der ersten Gruppe zusammenhängen. Am 10. und 11. Tage waren praktisch alle Wurzeln und die meisten Blattstiele in sehr unterschiedlichem Grade infektiv.

Daraus geht also hervor, daß nach einer etwa 7 Tage andauernden Inkubationszeit aus dem primär infizierten Blatt ein rascher Transport des infektiösen Agens in die Wurzel erfolgt, dessen Geschwindigkeit so hoch sein muß, daß eine Streckendifferenz von etwa 30 cm, wie sie bei Versuchsgruppe II gegenüber Versuchsgruppe I vorliegt, schon nicht mehr klar zum Ausdruck kommt. In längstens 24 Std muß die Strecke zwischen der Infektionsquelle und der Wurzel durchwandert worden sein. In allen diesen Versuchen tritt aber wieder die Erscheinung auf, daß Teile des durchwanderten Stengels frei von einer nachweisbaren Infektivität sein konnten. Diese für die Mechanik des Virusferntransportes

grundlegend wichtige Beobachtung, die in voller Übereinstimmung mit den älteren Angaben von SAMUEL (1934) und CAPOOR (1949) steht, wird in folgendem noch weiter analysiert werden.

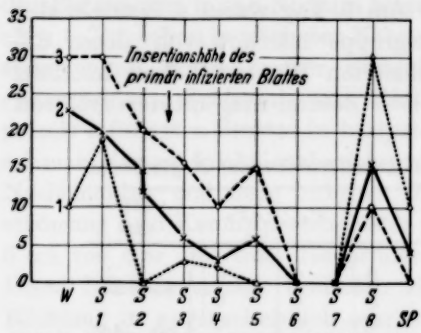


Abb. 9. Die Verteilung der Infektivität über die Organe einer ganzen Tabakpflanze. Auf der Abszisse sind die Stengelsegmente, auf der Ordinate die Mittelwerte der Anzahl der gebildeten Lokalläsionen abgetragen. *W* Wurzel; *S* Stengelsegment; *Sp* Spitze.

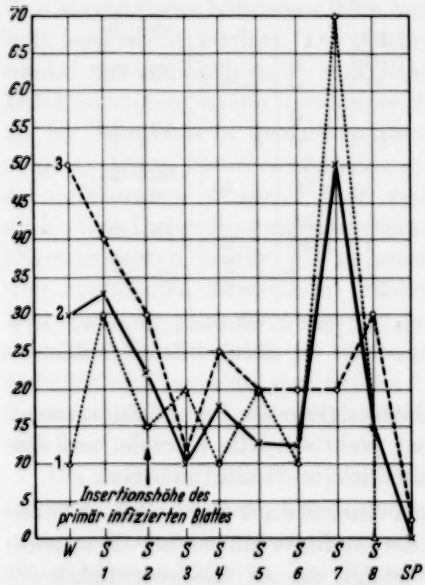


Abb. 10. Die Infektivität der Organe einer ganzen Tabakpflanze etwas später als in Abbildung 9. Auf der Abszisse sind die Stengelsegmente, auf der Ordinate die Mittelwerte der Lokalläsionen abgetragen. *W* Wurzel; *S* Segment; *Sp* Spitze.

VI. Die Ausbreitung und Bewegung des TMV im Stamm.

Während bisher nur die frühe Einwanderung des Virus aus dem primär infizierten Blatt in die Wurzel verfolgt wurde, soll im folgenden die Ausbreitung der Infektion durch die ganze Pflanze studiert werden. Schon die makroskopische Kontrolle der sog. Sekundärsymptome erlaubt in den austreibenden Blättern der Sproßspitze eine erste Feststellung der erfolgten Infektion, die in den folgenden Versuchen sowohl im Infektionstest wie mikroskopisch näher untersucht wurde.

Von 30 am 4. untersten Blatt primär mit *TMV flavum* infizierten Tabakpflanzen (Infektionsdatum 17. 5. 49), die zwischen dem 10. 6. und 15. 6. sämtlich Sekundärsymptome an den Spitzenblättern entwickelt hatten, wurden am 10. 6. 3 Pflanzen mit vergleichbarem äußeren Habitus (h = 38 cm), deren Sekundärsymptome gleichzeitig aufgetreten waren, entblättert, in Wurzel, 10 Stammsegmente und Sproßspitze zerschnitten und die einzelnen Preßsäfte auf *N. glutinosa*-Blatthälften verrieben.

Das Ergebnis[1] zeigt hohe Infektivität der Wurzeln. Die Anzahl der von den Wurzelproben gebildeten Lokalläsionen wird vom Sproß in Insertionshöhe des primär infizierten Blattes nicht

[1] Diese und die im folgenden beschriebenen Versuche sind aus einer größeren Anzahl von Infektivitätstesten mit gleicher Versuchsanstellung und ähnlichen Ergebnissen herausgegriffen.

mehr erreicht und nimmt weiterhin ab. Bis Mitte der Stammhöhe fällt die relative Infektivität, worauf wieder ein leichter Anstieg folgt, bis sie im oberen Stammdrittel (vorletztes Segment) 0 wird. Im letzten Segment, in der Zone der Sekundärsymptome, steigt bei sämtlichen Pflanzen die Infektivität dann steil an und fällt zum Vegetationspunkt hin ab.

8 Tage später wurden weitere 3 Pflanzen, deren Sekundärsymptome am 11. 6. gemeinsam erschienen waren, auf die gleiche Weise behandelt.

Abb. 10 zeigt das Resultat.

Bei sämtlichen Pflanzen war nun die bisher im *N. glutinosa*-Test nicht infektive Zone des vorletzten Segmentes geschlossen. Die Kurven zeigen deutlich den schon im vorigen Versuch bemerkten kleinen Gipfel relativer Infektivität vor dieser ehemals nicht infektiven Stengelzone. Steiler Anstieg der Infektivitätskraft im Bereich der Triebspitzen, Abfall zu den Vegetationspunkten.

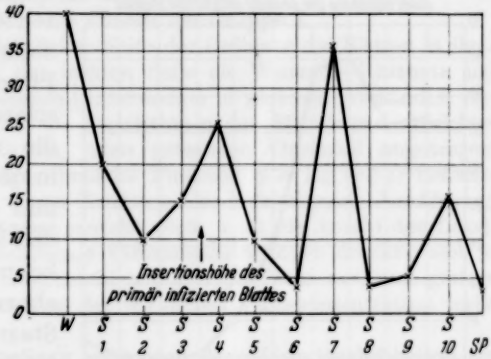


Abb. 11. Die Infektivität einer voll infizierten Tabakpflanze. 5 Tage später als Abb. 10. Auf der Abszisse sind die Stengelsegmente, auf der Ordinate die Mittelwerte der Lokalläsionen abgetragen. *W* Wurzel; *S* Segment; *Sp* Spitze.

5 Tage später wurden nochmals weitere 3 Pflanzen gleichermaßen behandelt. Da ihre relative Infektivität sich in besonders gut vergleichbaren Lokalläsionsanzahlen auf *N. glutinosa* ausdrückte, wurden die gemeinsamen Mittelwerte dieses Versuches in einer Kurve ausgedrückt. Die Pflanzen dieser Reihe wurden in kleinere Segmente zerschnitten, die sich etwa mit je 2 Internodien deckten. Ihre Zahl ist der Kurve zu entnehmen (Abb. 11).

Der Verlauf ist dem der vorigen Abbildungen ähnlich, nur daß ein neues Maximum an Stelle der früheren Minima im oberen Drittel des Sprosses getreten ist.

Nach weiteren 2 Monaten wurde nochmals eine Gruppe dieser Pflanzen auf ihre Infektivität hin getestet. Die relative Infektivität dieser Pflanzen zeigte nun ein von dem der früheren Versuche verschiedenes Bild.

Abb. 11 a stellt den Test einer von 6 Pflanzen dar. Die Anzahl der von den übrigen erzeugten Lokalläsionen ergab in den Hauptzügen für die einzelnen Pflanzen nicht sehr abweichende Kurven.

Die höchste Infektivität ist in den Zonen größter Stengeldicke, also an der Basis besonders im Rindenparenchym lokalisiert. Sie fällt dann bis zur Insertionshöhe des ehemaligen primär infizierten Blattes etwas

ab, um dann steil bis zum vorletzten Internodium abzusinken. Dann folgt wieder ein leichter Anstieg im Bereich der jüngsten Blätter.

Aus allen Kurven geht übereinstimmend hervor, daß die Infektivität bestimmter Sproßabschnitte offenbar im Verlauf der Erkrankung beträchtliche Schwankungen zeigt. Dies steht in Übereinstimmung mit den Befunden von MARTIN, BALLS und MCKINNEY (1938) sowie von SPENCER (1941), die in quantitativen Versuchen die nach einer gewissen Inkubationszeit erfolgende starke Zunahme von Virusproteiden, später aber wieder eine Abnahme beobachteten. Da diese Versuche jedoch unter Verarbeitung *ganzer* Pflanzen durchgeführt wurden, erlauben sie keinen Überblick über die wechselnde Viruslokalisierung in den einzelnen Organteilen ein und derselben Pflanze, wie er aus den hier vorgelegten Versuchen erkennbar wird. Es zeigte sich ferner abermals, daß gewisse Zonen des Stammes, auch wenn sie von dem infektiösen Agens durchwandert werden, noch keine Infektionskraft besitzen, diese aber später erlangen können.

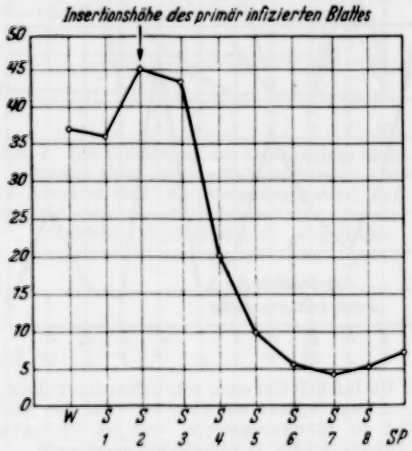


Abb. 11a. Die Infektivität einer voll infizierten Pflanze nach 2 Monaten. Auf der Abszisse sind die Stengelsegmente, auf der Ordinate die Mittelwerte der Lokalläsionen abgetragen. *W* Wurzel; *S* Segment; *Sp* Spitze.

Es war nun weiter von Interesse, die Richtung der Virusausbreitung im Sproß in Abhängigkeit von der Insertionshöhe der Infektionsquelle, aber auch von anderen Faktoren zu untersuchen.

10 Tabakpflanzen (100—130 cm hoch) wurden ausgewählt, die durch Ausschneiden der Triebspitzen und Ausbrechen sich bildender lateraler Achseltriebe am Blühen verhindert wurden.

Fünf dieser Pflanzen (Gruppe I) wurden wieder über dem 4. gut erhaltenen Blatt (vergilbte oder abgefallene Blätter wurden nicht gezählt) oberhalb der Stengelbasis, und weitere 5 (Gruppe II) an möglichst hoch gelegenen Blättern des alten Stammes dicht unterhalb des zur sekundären Sproßspitze austreibenden Achselsprosses mit *TMV vulgare* auf gewöhnliche Weise infiziert.

Bei Gruppe I erschienen vom 26. Tag an in den neu gebildeten Spitzenblättern ausgeprägte Sekundärsymptome. Bei Gruppe II waren sie durch direktes Einwandern des Virus vom Ort der primären Infektion in die Spitzenorgane über der Epidermis mehr oder weniger verdeckt.

Eine Pflanze von jeder Gruppe wurde am 26. Tag nach der Inokulierung sukzessive von oben nach unten in ihre Internodien zerschnitten, ausgepreßt und die mit Phosphatpuffer 1:100 und 1:1 verdünnten Saftproben auf Blatthälften

von je 2 (je Probe) mindestens 10blättrigen *N. glutinosa*-Pflanzen verrieben. Auf Testpflanze I wurden die linken Blatthälften mit 1:1-Proben, die rechten mit 1:100-Verdünnung inokuliert. Bei Testpflanze II wurde umgekehrt verfahren. Weiterhin wurden mit denselben Preßsäften auf gleiche Weise junge *N. tabacum*-Pflanzen inokuliert (für jede Probe wurde eine Pflanze verwendet). Ausgewertet wurden meist die durch 1:100 verdünnte Preßsäfte hervorgerufenen Läsionszahlen. Nur in Zweifelsfällen, wenn diese Verdünnung im Gegensatz zur konzentrierten Lösung keine Läsion ergab, wurden Blatthälften der Verdünnungen 1:1 verwendet.

Es wurden die Nodien+Internodien für sich einerseits und die dazugehörigen Blätter andererseits gesondert ausgepreßt und getestet.

Abb. 12 zeigt die Ergebnisse für eine Pflanze der Gruppe I.

In der Darstellung sind auf der linken Seite der Ordinate die Blätter in ihrer natürlichen Reihenfolge und auf der rechten Seite die Wurzeln+Rhizome und die zu den Blättern gehörigen Nodien+Internodien in gleichen Abständen eingetragen. Auf den Abszissen sind die Logarithmen der Mittelwerte erreichter Läsionszahlen+ einer Konstanten für jeden getesteten Organteil abgetragen. Für die Darstellung wurde die logarithmische Funktion $y = \log (x+c)$ benutzt, da nach KLECZOWSKI (1949) mit dieser Funktion eine befriedigende Annäherung an die reellen Infektivitätsverhältnisse erreicht wird. x ist die Anzahl der Lokalläsionen, c eine Konstante. Abnehmende Viruskonzentrationen drücken sich in nur schleppender Abnahme der Läsionszahlen auf *N. glutinosa* aus, und geringe Lokalläsionszahlen sind in diesem Test der wirklichen Viruskonzentration meist nicht äquivalent.

In der logarithmischen Darstellung erscheinen diese Unzulänglichkeiten des *N. glutinosa*-Testes weniger kraß. Als Konstante wurde 1 gewählt, um die auch im *N. tabacum*-Test als nicht infektiös erwiesenen Preßsäfte in der Konzentration 0 erscheinen zu lassen. Es sei bemerkt, daß nur solche Proben als frei von infektiösem Agens dargestellt wurden, die weder auf *N. glutinosa* Läsionen erzeugten, noch *N. tabacum*-Pflanzen zu infizieren vermochten.

Auf der rechten Seite zeigt die Abb. 12 hohe Infektivität der Wurzel und der unteren Internodien bis zur Höhe des primär infizierten Blattes. Nach anfänglichem Absinken steigen die Werte bei Internodium 11 wieder an, eine Erscheinung, die sich bei Internodium 16 noch einmal wiederholt. Es sind dies die Nodien, deren Blätter genau über dem infizierten Blatt standen (s. auch linke Seite der Abb. 12). Von Internodium 21—29 zeigte der Stamm keine Infektivität. Die obersten Internodien und die sekundäre Spitze waren dagegen infektiv. Vermutlich ist von diesen Zonen aus bereits wieder eine sekundäre Ausbreitung des Virus vom 32. bis zum 30. Internodium in basipetaler Richtung erfolgt. Die Läsionszahlen der Blattpreßsäfte auf der linken Seite der Abbildung erwiesen hohe Infektivität von Blatt 6, dem primär infizierten Blatt. In die darunter liegenden Blätter war das Virus eingewandert, obwohl diese zum Teil schon Alterserscheinungen zeigten und sicher nicht mehr von einem Assimilationsstrom im Sinne BENNETTS von außerhalb versorgt wurden, während die darüber liegenden, bis auf die direkt über dem infizierten Blatt stehenden Blätter 11 und 17, keine Lokalläsionen erzeugten.

Die relativ hohen Läsionszahlen der zugehörigen Nodien und Internodien (rechte Abbildungshälfte) scheinen auf eine enge Verbindung (vielleicht über die Leitbahnen oder Bündelscheiden ?) zum primär infizierten Blatt hinzuweisen.

Die Blätter 33 und 34 sowie die sekundär ausgetriebene Spitze waren verhältnismäßig schwach infektiv, obwohl in ihnen schon typische Sekundärsymptome deutlich ausgeprägt waren.

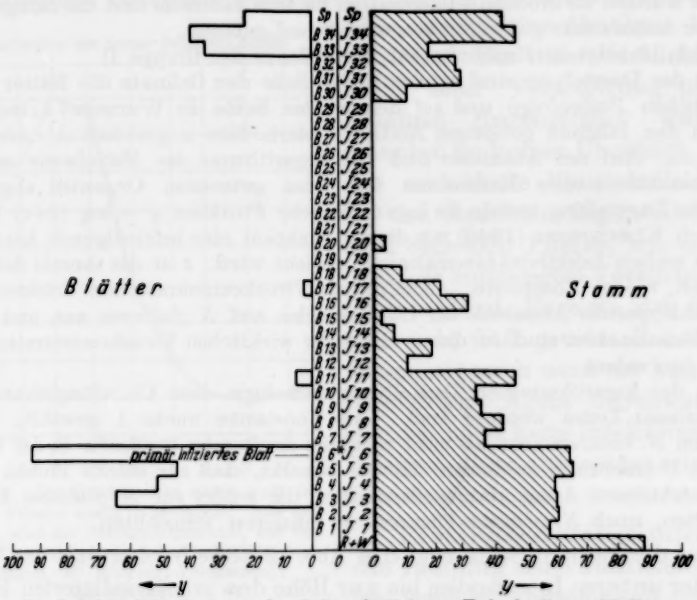


Abb. 12. Die Infektivität einer an der Spitze infizierten Tabakpflanze 26 Tage nach der Infektion. $y = \log(x+1)$; x mittlere Anzahl der Lokalläsionen; I Internodien + Nodien; B Blatt; Sp Vegetationsspitze; $R+W$ Rhizom + Wurzel.

Das Ergebnis des Infektivitätstestes der Pflanzen von Gruppe II war dagegen ganz andersartig (Abb. 13). Der Stamm erwies sich als vollkommen infiziert. Minima an Läsionszahlen waren nur in den Internodien 8—12 zu bemerken, die sich auch in der relativ schwachen Infektivität der dazugehörigen Blätter (linke Abbildungshälfte) demonstrieren ließen. Vom 31. Internodium an nahm die Zahl der erzeugten Lokalläsionen bis zur sekundären Spitze hin ab. Die niedrigste Läsionszahl überhaupt wurde von den beiden Spitzenproben erreicht. Sie war in Nähe des Vegetationspunktes geringer als in der unmittelbar darunter gelegenen Stengelzone.

Überraschend erwiesen sich sämtliche Blätter im Vergleich zur Versuchsgruppe I schon in verschiedenen Graden infektiv, wie dies die linke Abbildungshälfte demonstriert. Interessant ist dabei der Befund,

daß Blatt 28 vergleichsweise sehr wenige Lokalläsionen erzeugte, während sein gerade ausgetriebener Achselsproß Läsionszahlen zeigte, die nahe an die des primär infizierten Blattes heranreichten. Im Gegensatz zum Spitzenaustrieb zeigte dieser Achselsproß den Habitus der sekundären TMV-Infektion.

Die übrigen Pflanzen des Versuches konnten nicht in gleicher Weise getestet werden, da die Möglichkeit der gleichzeitigen Anzucht der notwendigen erheblichen Mengen von *N. glutinosa*-Pflanzen begrenzt war

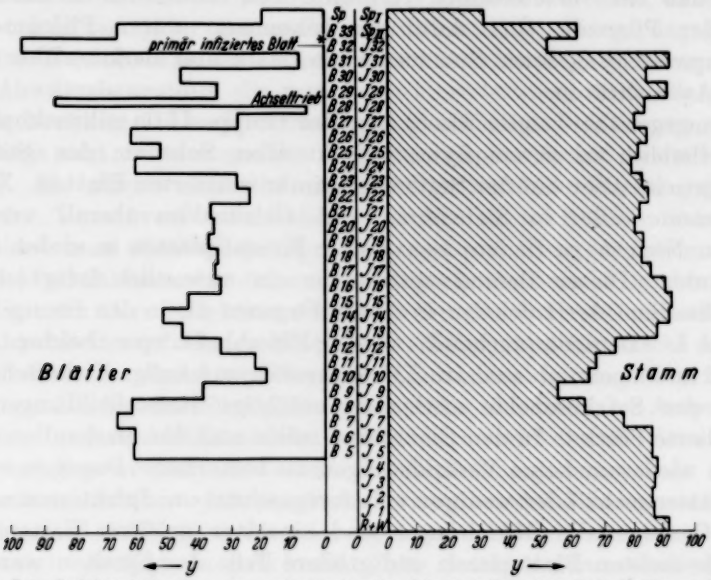


Abb. 13. Die Infektivität einer am sechstuntersten Blatt infizierten Tabakpflanze 26 Tage nach der Infektion. $y = \log (x + 1)$; x mittlere Anzahl der Lokalläsionen; I Internodien + Nodien; B Blatt; Sp Vegetationsspitze; $R + W$ Rhizom + Wurzel.

(für die beiden beschriebenen Teste wurden allein 160 *N. glutinosa*-Pflanzen verbraucht!).

Dagegen wurden sie vorzugsweise zur mikroskopischen Untersuchung verwendet. Nur orientierend wurden nebenbei auch Blattproben von Pflanzen der Gruppen I und II auf ihre Infektivität hin getestet. Obwohl diese Versuche 6 Tage später ausgeführt wurden, waren die Blattspitzen der Gruppe I bis auf 3 Fälle nicht infektiv, während die der Gruppe II sämtlich Lokalläsionen erzeugten.

Die mikroskopische Untersuchung der Stengel und Blätter von Pflanzen beider Gruppen zeigte bei Gruppe I im Stamm meist wieder schmale Infektionszonen in Epidermis und Rinde in Nähe der Insertion des primär infizierten Blattes mit Gruppen von X-Körpern, aber sehr wenigen Kristallen. Die sekundär infizierten Spitzenzonen der Stengel

aber wiesen außer den intraplasmatischen Frühbildern der Infektion wenig charakteristische Merkmale auf.

Besondere Aufmerksamkeit wurde wieder der Untersuchung der Siebröhren geschenkt[1], die im lebenden und fixierten Zustand beobachtet wurden, aber keine Anomalität erkennen ließen. Ganze Stengelabschnitte wurden auch gleichzeitig mit Stengeln gesunder Kontrollen mit fluoreszierenden Farbstoffen (Fluorescein, Neutralrot, Eosin, Pyronin, Rhodamin S, Auramin, Chrysoidin, Acridinorange) behandelt, ohne daß ein verschiedenes Verhalten von Siebröhren kranker und gesunder Pflanzen zum Ausdruck gekommen wäre. Phloem- und Xylemparenchym, sowie Scheidenzellen, Mark und Markstrahlen waren ohne Anomalitäten.

Demgegenüber zeigten die Stengel der Gruppe II im mikroskopischen Bild erheblich schwerere Symptome in allen Sektoren des Stengels, vorzugsweise aber auf der Seite des primär infizierten Blattes. X-Körper waren außer in Siebröhren und Geleitzellen überall verstreut oder in Nestern zu finden, hexagonale Kristallplatten in vielen Zellen vorhanden. Dieser Befund spricht für ein wesentlich fortgeschritteneres Stadium der Infektion in diesen Organen als in den Stengeln der Gruppe I. Dementsprechend waren Einschlußkörper beider Arten sowohl im Phloem- als auch im Xylemparenchym häufig. Viele Scheidenzellen der Stärkescheide enthielten mächtige Kristallbildungen und korrodierte Stärke. In den Siebröhren selbst und den Markzellen waren jedoch wiederum keine Veränderungen zu bemerken. Dagegen zeigten die Blätter mehr oder weniger weit fortgeschrittene Infektionszonen in allen Geweben der Mittelrippen und einzelner größerer Seitenadern. Nur die meisten Blattspitzen und größere Teile der Spreiten waren bis auf die jüngsten Blätter ober- und unterhalb des primär infizierten Blattes auch von frühen Symptomen des Virusangriffes weitgehend frei.

Aus diesen Versuchen kann nun insgesamt entnommen werden, daß aus einer Infektionsquelle, die in den unteren Teilen einer Pflanze im vegetativen Stadium liegt, zunächst eine beschleunigte Bewegung des infektiösen Agens nach der Wurzel erfolgt. Dann scheint von der Wurzel aus nach einer längeren Verzögerung[2] (meist in meinen Versuchen

[1] Während dieser Versuche wurde noch keine Phasenkontrastoptik verwendet. Nach späteren Erfahrungen hätten sich wahrscheinlich mittels dieser Methode noch feinere Differenzierungen der Infektionszustände in den Zellen der einzelnen Gewebe erkennen lassen.

[2] Nach JOHNSON (1937) wandert aus primär infizierten Wurzeln kein TMV in die Sproßachsen ein. BENNETT (1940) erhielt nach Entfernen der Sproßspitzen wurzelinfizierter Tabakpflanzen nach 6—8 Tagen in den lateralen Austrieben Symptome. Eigene Versuche mit infizierten Wurzeln, deren Sproßachse innerhalb des Rhizoms abgeschnitten wurde, ergaben, daß die meisten der austreibenden Achseltriebe zunächst weder infektiv waren noch Symptome zeigten. Nach

zwischen dem 15. und 30. Tag nach der Primärinfektion) ein stoßweiser Transport infektiver Substanzen nach dem oberen Sproßteil einzusetzen, wobei aber zunächst nur die jungen Spitzenblätter in einem — wahrscheinlich — frühen Entwicklungsstadium befallen werden. Ein Eindringen des Virus in die ausgewachsenen Blätter und die älteren Gewebe der Achse scheint von der Wurzel und der Ansatzstelle des primär infizierten Blattes aus nur sehr langsam von Zelle zu Zelle über Epidermis und Rindenparenchym zu erfolgen. Ganze Achsenteile, durch die die Infektion hindurchgeleitet worden sein muß, bleiben zunächst frei von jeder nachweisbaren Infektivität. Liegt dagegen die primäre Infektionsquelle in den obersten Spitzenregionen, so erfolgt eine Abwärtsbewegung, die nun bezeichnenderweise auch alle Seitenorgane berührt. Diese Überflutung der seitlichen Blätter usw. erfolgt allerdings erst dann, wenn die Vegetationsspitze selbst zuvor infiziert wurde. Sie scheint eine sehr merkwürdige lenkende Wirkung auf den Weg der Virusinvasion zu haben, so lange sie noch selbst intakt ist. Schneidet man nämlich die Sproßspitze unmittelbar über dem Ansatz des als Infektionsquelle dienenden Blattes ab, sobald in der Spitze erste Spuren einer Infektion erkennbar werden und entfernt auch den Achselsproß des infizierten Blattes, so erfolgt weiterhin rasche Leitung des infizierenden Agens zur Wurzel und keine Ausbreitung in die übrigen seitlichen Blätter des Stumpfes, so lange die sich nach der Amputation aus den anderen Blattachseln natürlich entwickelnden Seitentriebe nicht befallen werden. Sowie der die Gipfelknospe ersetzende Seitentrieb seinerseits aber von dem Virus (etwa über das Rindenparenchym) erreicht und infiziert wird oder typische Sekundärsymptome zeigt, ändert sich die Lage in ganz kurzer Zeit. Jetzt werden auch die Blätter infektiv. Dasselbe ist der Fall, wenn laufend sämtliche Achselknospen ausgeschnitten werden. Auch hier führt schließlich der Verlust aller dieser Direktionszentren zur Infektion sämtlicher Seitenorgane.

Eine ähnliche Rolle scheinen auch die Vegetationspunkte der Wurzeln zu spielen. Wie schon wiederholt betont, kann von einer infizierten Wurzel aus sekundär, offenbar stoßweise, eine Invasion des Sprosses erfolgen, jedoch nur dann, wenn die Wurzeln ihre Vegetationsspitzen behalten. Werden diese abgeschnitten, so unterbleibt so lange eine Aufwärtsbewegung, bis sich neue Regenerate gebildet haben. Es genügt, daß dabei eben erkennbare embryonale Wurzelanlagen ausgebildet werden, um die Bewegung nach oben wieder in Gang zu setzen. Die bevorzugte Leitung zunächst zur Wurzel, die in Abschnitt V beschrieben wurde, wird nur dann unterbrochen, wenn die Pflanze Blütenknospen

längerer Zeit (17, 20, 21 und 24 Tage nach dem Abschneiden) erschienen in den Spitzen der Sprößlinge typische Sekundärsymptome, während die älteren Seitenorgane und einige Stengelabschnitte noch nicht infektiv waren.

ansetzt oder Früchte reift (s. auch BENNETT 1940). In diesen Fällen scheinen diese Zentren den Einfluß der Wurzel zu überwiegen, so daß nun aus einem infizierten Blatt zunächst die Leitung nach oben geht und nur geringe Mengen die Wurzel erreichen. Jedoch weist der Umstand, daß sich jetzt in der Wurzel doch noch eine ganz schwache Infektivität nachweisen läßt, daraufhin, daß eine gleichzeitige zweiseitige Ausbreitung, wenn auch mit Bevorzugung der Richtung nach oben, stattgefunden hat.

VII. Das Infektivwerden sekundär infizierter Blätter.

Nachdem in den vorhergehenden Abschnitten V und VI die Translokation der Infektion durch die verschiedenen Teile einer Pflanze beschrieben und die Tatsache weiter erhärtet werden konnte, daß bei diesen Wanderungen Teile der Wanderbahnen längere Zeit frei von nachweisbaren Infektionsstoffen bleiben, mußte in der Folge erneut die Frage nach der Natur des wandernden Agens erhoben werden. Schon in Abschnitt IV war ja die Vermutung ausgesprochen worden, daß eventuell nichtinfektive Vorstufen des abnormen Nukleoproteids oder andere kleinermolekulare Stoffe die eigentlichen Wanderformen darstellten. Die beobachtete Translokation über große Strecken, etwa von der Wurzel bis in die Spitze einer Pflanze, mußte nun aber am ehesten die Möglichkeit bieten, hier weiter vorzustoßen, wenn es etwa gelingen würde, die ersten Anfänge einer beginnenden Infektion in der Spitze noch näher zu erfassen. Es wurde daher in der Folge vor allem diesem ersten erkennbaren Auftreten von virusbedingten Symptomen in den Triebspitzen erhöhte Aufmerksamkeit gewidmet. Diese sog. Sekundärsymptome, die „systemic symptoms" der Literatur, äußern sich schon makroskopisch in ganz typischer Weise. Sie kommen jedoch nur dort klar zur Ausbildung, wo die Erkrankung tatsächlich durch eine Fernleitung von einer weit abliegenden Infektionsquelle her erregt wird. Eine Infektion der Sproßspitze — etwa über das Rindenparenchym — aus näherer Entfernung zeigt im Anfang aber andersartige Erscheinungen, die den Ausbreitungssymptomen des Virus im primär infizierten Blatt ähnlicher sind. Die Infektion folgt hier zunächst den Nerven der jungen Blätter und schreitet gleichzeitig innerhalb begrenzter Zonen im Rindenparenchym des Stengels von Zelle zu Zelle fort, bis die Vegetationsspitze erreicht ist. In diesem Stadium beginnt die beschriebene Einwanderung des infektiven Agens in sämtliche Seitenorgane des Sprosses. Der nächste an der so infizierten Spitze zuwachsende Blattkreis zeigt meist schon makroskopisch die gleichen Spätsymptome der Mosaikfelderung, wie sie auch im Gefolge der frühen Stadien einer über lange, augenscheinlich virusfreie Stengelstrecken erfolgten Sekundärinfektion auftreten.

Die ersten makroskopisch erkennbaren Anzeichen einer Infektion über lange Strecken können immer an den Blättern des vorletzten, zuweilen auch schon an den gestreckten Laminae des letzten Blattkreises wahrgenommen werden. Häufig zeigt sich zuerst eine feine gelbliche (besonders beim *TMV flavum*) Aufhellung der Blattnerven mit einigen wenigen, kaum erkennbaren chlorotischen Flecken auf der Spreite. Diese Erscheinung zeigt sich etwa beim fünft- bis sechstobersten Blatt[1] von der Sproßspitze aus gerechnet, und zwar ziemlich gleichmäßig über die gesamte Spreite verteilt. Je nach Alter und Insertionshöhe können Teile eines solchen Blattes (etwa die Spitze) noch gänzlich frei von solchen Symptomen sein. Das siebente, also darunterliegende Blatt ist in solchen Fällen dann meist bis auf die Blattbasis ohne solche Aderaufhellung, während das nach dem sechsten gebildete Blatt an seiner Spitze noch dessen Symptome zeigen kann, aber an seiner Basis bereits größere chlorotische Randzonen mit kleinen eingestreuten, dunkelgrünen Gewebeinseln hervortreten. Das übernächste Blatt mag dann ausschließlich diese auffällige Marmorierung erkennen lassen. In der Folge kommen wieder Blätter zur Entwicklung, bei denen von der Basis her größere geschlossene dunkelgrüne Flächen auftreten, bis schließlich sogar in diesen abnormen dunkelgrünen Bezirken noch normale grüne erscheinen.

Die Infektion eines solchen Blattkreises muß in einem bestimmten frühen Entwicklungsstadium der Blattanlagen gleichzeitig oder annähernd gleichzeitig erfolgt sein. Während die ältesten Zellbereiche der zuerst ausgebildeten Blätter noch symptomfrei sein können, zeigen verschiedene Blätter desselben Kreises in ihren ontogenetisch übereinstimmenden Bezirken gleiche äußere und, wie noch beschrieben wird, gleiche intrazelluläre Symptome[2].

Wurde die Infektivität solcher Blätter im frühesten, gerade makroskopisch erkennbaren Stadium der Symptombildung auf *N. glutinosa* geprüft, ergab sich immer wieder eine zunächst erstaunlich geringe Infektivität, die dann aber rasch zunahm.

So wurde, um ein Beispiel aus 34 ähnlichen Versuchen zu geben, in einem Versuch von dem 5. Blatt unterhalb der Vegetationsspitze (Länge etwa 9 cm), das gerade die feine gelbliche Netzäderung der für das *TMV flavum* typischen frühen Sekundärsymptome zeigte, aus einer Blatthälfte ein Feld zwischen 2 größeren Seitenadern ausgeschnitten, eine kleine Probe davon nach REGAUD fixiert und ein ebensolches Stück zur Lebenduntersuchung aufbewahrt. Der Rest wurde wie üblich ausgepreßt und der Saft auf *N. glutinosa* übertragen. Nach 26 Std wurde

[1] Nach dem Referat 34965 [Biol. Abstr. D **25**, 11 (1951)] fanden LIMASSET u. a. niedrige Infektivität in den Spitzenblättern TMV-kranken Tabaks, aber maximalen Virusgehalt in jeweils *einem* etwas tiefer inserierten Blatt (Nr. 5—10 vom Vegetationspunkt aus gerechnet).

[2] Untersuchungen über die Infektionsverhältnisse an sekundär infizierten Sproßspitzen sollen a. a. O. veröffentlicht werden.

ein ähnliches Stück der anderen Blatthälfte ebenso behandelt und nach weiteren 14 Std eine 3. Probe, wieder aus der ersten Blatthälfte, ausgeschnitten. Die Resultate zeigt Tabelle 8.

Die mikroskopische Untersuchung von Frischschnitten und fixiertem Material der ersten Probe zeigte, trotz der äußerlich bereits deutlich sichtbaren Erscheinungen, in sämtlichen Zellen und Geweben nur das typische Erregungsbild des Plasmas: Breite schnellströmende Plasmastränge, hypertrophierte Kerne, viele Plastiden in Teilung und Degeneration, BMB in Vakuolen und Plasma. Virusbedingte Einschlüsse wurden keine gefunden.

Tabelle 8. *Anzahl der Lokalläsionen auf N. glutinosa.*

	Ausschnitte aus Blatt 5		
	11. 3., 17°°	12. 3., 19°°	13. 3., 9°°
Versuch CFP 18	3	24	>50

Probe II dagegen enthielt schon verhältnismäßig viele große X-Körper, andere waren in Bildung, während granuläre Massen durch die Zellen zirkulierten.

In Probe III enthielt fast jede der untersuchten Zellen einen X-Körper mit Ausnahme der Zellen in kleinen, vollkommen chlorotischen Bezirken, in denen weder Chloroplasten noch andere zytoplasmatische Einschlüsse nachzuweisen waren.

Die im Laufe der Gesamtuntersuchung immer wieder vorgenommene Nachprüfung dieses Befundes, daß nämlich sekundär infizierte Blätter im frühesten makroskopisch erkennbaren Stadium keine oder nur geringe Infektivität zeigten, ergab immer wieder ähnliche Resultate, auch wenn die Zeiten der Probeentnahme verkürzt oder verlängert wurden. In solchen Blättern konnte alsdann aber innerhalb kurzer Zeit mikroskopisch viel leichter als bei Primärinfektion die Entwicklung der Infektion in allen Stadien vom anomalen Zustand der Protoplasten bis zur Bildung amorpher und kristalliner Einschlußkörper verfolgt werden (maximal innerhalb von 6 Tagen). Sehr häufig ergaben die ersten Proben, wenn die Sekundärinfektion rechtzeitig erkannt wurde, überhaupt keine Läsionen auf *N. glutinosa*, obwohl in *sämtlichen Protoplasten* eines solchen Blattes bereits deutlich Plasma- und Kernhypertrophie nachweisbar waren.

Diese Beobachtungen berühren sich demnach auf das engste mit den früher beschriebenen Befunden bei der Primärinfektion von Blättern (Abschnitt IV).

In weiteren Versuchen wurde nun geprüft, ob und wieweit Blätter, die zwar deutlich diese Symptome der Aderaufhellung zeigten, aber noch keine Infektivität erkennen ließen, in der Lage waren, aus sich heraus infektiv zu werden, wenn sie von der weiteren Zufuhr infektiöser

Stoffe aus der Infektionsquelle abgeschnitten wurden. Zu diesem Zweck wurden zunächst Spitzen von etwa 60 cm hohen Pflanzen, die mindestens 18 Tage vorher an ihren unteren Teilen mit *TMV flavum* infiziert worden waren, aber noch keine Symptome erkennen ließen, unter dem 10. Blatt (von der Spitze aus gerechnet) abgeschnitten und mit der Schnittfläche in Knoopsche Nährlösung gestellt. Innerhalb von 30 Tagen traten an den Spitzenblättern trotz reichlicher Bewurzelung der Sproßenden keinerlei erkennbare Virussymptome auf. Wurden dagegen die Sproßspitzen von Pflanzen, die auf dem 3.—5. Blatt gerade sichtbare Aderaufhellung erkennen ließen, abgeschnitten und ebenso behandelt, so zeigte sich, obwohl am 1. Tag noch jede Infektivität fehlte, am 2. und 3. Tag langsam zunehmende Infektivität; doch trat keine weitere Ausbreitung in die darüber oder darunter inserierten Blätter des Sprosses ein. Erst nachdem sich an der Basis der Stecklinge Wurzeln gebildet hatten, setzte entsprechend den früher geschilderten Erfahrungen eine langsame Invasion der unteren Blätter längs der Hauptrippe ein. Wurden die Sprosse statt in Nährlösung in destilliertem Wasser gehalten, so war jedoch eine deutliche Verzögerung dieser Virusausbreitung zu bemerken.

Demnach kann kein Zweifel sein, daß dann, wenn die ersten Symptome einer Aderaufhellung makroskopisch erkennbar werden, in diesen Blättern noch kein oder nur wenig isolierbares Virus vorhanden ist. Aber in ihren Zellen müssen doch bereits solche Veränderungen vorgegangen sein, daß sich in ihnen ohne erneute Viruszufuhr von außen in kurzer Zeit infektives Virus bilden kann. Interessant und wichtig ist bei diesen Befunden, daß die Symptome der Erkrankung schon *vor* der Nachweisbarkeit des infektiösen Stoffes deutlich sichtbar auftreten, und daß die Symptome auf großen Flächen über das ganze Blatt gleichmäßig verteilt sind. Dies deutet nämlich darauf hin, daß der schon früher geäußerte Verdacht, wonach sich in diesen Frühformen der Infektion der Virusnachweis nur infolge zu geringer Mengen des infektiösen Stoffes nicht führen läßt, kaum zutreffen kann.

Auch McKinney und Hills haben bereits 1941 an *Capsicum annuum* beobachtet, daß nach einer Infektion mit TMV an weit vom Infektionsherd entfernt liegenden Blättern chlorotische Stellen auftraten, die keine Infektivität zeigten. Sie suchten dies mit einer toxischen Fernwirkung der Infektion zu erklären, da sie nicht beobachten konnten, daß diese Stellen später infektiv wurden.

Bei *Nicotiana tabacum* fanden sie im Gegensatz zu meinen Versuchen immer Infektivität in derartigen chlorotischen Bezirken. Offenbar ist die Spanne zwischen dem Auftreten sichtbarer Symptome und dem Infektivwerden hier wesentlich kürzer, so daß sich diese Erscheinung den Autoren entzog.

In weiteren Experimenten wurde nun im folgenden versucht, dieses Infektivwerden infizierter Blätter zeitlich noch schärfer zu erfassen, indem die Testproben in noch kürzeren Zeitintervallen aus einem Blatt mit eben erkennbaren Symptomen entnommen wurden. Tabelle 9 enthält als Beleg aus 42 ähnlichen Versuchsserien das Ergebnis einer solchen Testreihe.

Tabelle 9. *Anzahlen der Lokalläsionen auf N. glutinosa.*

Proben vom 6. Blatt einer sek. infizierten Spitze. Versuch PxL_3 26. 6. 49.

11^{25}	12^{00}	13^{10}	15^{00}	16^{30}	17^{30}	19^{00}	21^{00}	23^{00}	2^{00}	6^{25}	10^{00}
0 5 y-L	*0* 3 y-L	*0* 9 y-L	*1* 4 y-L	7	*3* 2 y-L	2	6	5	13	28	16
a	b	c	d	e	f	g*	h	i	k	l	m

* Erste X-Körper.

Die kleinen Buchstaben bezeichnen die einzelnen Preßsaftproben, die Zahlen aufgerundete Mittelwerte der erzeugten Läsionen auf *N. glutinosa*-Blatthälften.

Mit y-Läsionen sind sehr kleine, bisher noch nicht beobachtete Lokalläsionen auf *N. glutinosa* bezeichnet, die stets nur kurzfristig von Preßsäften aus Proben von Blättern erzeugt wurden, in denen gerade eben sichtbare Sekundärsymptome nachweisbar waren.

Trotz einiger Schwankungen kommt hier während eines Zeitraums von 24 Std zunehmende Infektivität der Proben aus dem gleichen Blatt deutlich zum Ausdruck. Die Schwankungen dürften vermutlich auf Grund verschiedener Empfindlichkeit der relativ wenigen *N. glutinosa*-Blätter entstanden sein, da nur geringe Mengen Preßsaftes aus diesen kleinen Proben zu extrahieren waren.

In diesen, wie in den anderen hier nicht näher aufgeführten ähnlichen Versuchen fiel das erste Auftreten von X-Körpern wiederum mit der zunehmenden Infektivität der Preßsäfte zusammen. So wurden im Blattstück der Probe g mikroskopisch die ersten ausgebildeten X-Körper gefunden, während in Probe d bereits Vorphasen der Bildung zur Beobachtung kamen. Überraschenderweise stellte sich heraus, daß in ganz frühen Stadien einer Sekundärinfektion in den Preßsäften der befallenen Blätter bereits Stoffe auftreten, die zwar keine der normalen, für das Virusnukleoproteid typischen Läsionen auf *N. glutinosa* erzeugen, aber doch daselbst einen kleinen, bisher noch nie beobachteten Schaden hervorrufen. Im folgenden wird diese Erscheinung als y-Läsion bezeichnet und näher beschrieben.

In der in Tabelle 9 aufgeführten Infektionsreihe (wie auch in den meisten der nicht aufgeführten ähnlichen Versuche) erzeugten Proben aus Blattstücken mit makroskopisch gerade erkennbarer Aderaufhellung, deren Zellen mikroskopisch nur Plasmaquellung und Kern-

hypertrophie zeigten, auf *N. glutinosa* nach 3—4 Tagen leicht übersehbare winzige nekrotische Läsionen. Diese Flecken entsprachen in ihrem makroskopischen und mikroskopischen Bild etwa dem Zentrum normaler Lokalläsionen auf *N. glutinosa*, ohne den Gesamthabitus solcher Läsionen zu erreichen. Gewöhnliche Läsionen sind bekanntlich von einem mehr oder weniger breiten, dunklen Ring umschlossen. Innerhalb dieser Zone sind in verdickten nekrotischen Zellwänden phenolartige Körper (vielleicht Gerbstoffe) infiltriert. Abb. 15 zeigt eine solche Normalläsion im Stadium der Entwicklung, Abb. 16 eine fertig ausgebildete. Demgegenüber ist in Abb. 14 das ganz ringfreie nekrotische Bild der y-Läsion wiedergegeben, wie es Preßsäfte von Gewebeteilen im beschriebenen frühen Infektionsstadium auf *N. glutinosa* hervorbringen. Die Zellen solcher Flecken hypertrophieren nach spätestens 24 Std, und das mikroskopische Bild zeigt an solchen Orten keine Interzellularen mehr.

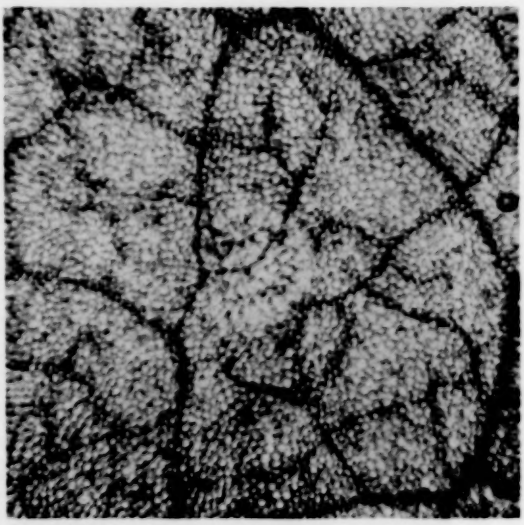


Abb. 14. Typische y-Läsion auf *N. glutinosa*. Lupenvergrößerung 20mal. Die Blattstücke wurden vor der Aufnahme mit Wasser infiltriert.

Unmittelbar darauf scheinen die Zellen sukzessive von innen nach außen abzusterben im Gegensatz zu den normalen Läsionen auf *N. glutinosa*, deren Zentren zwar auch schon frühzeitig auf ähnliche Weise zerstört werden, deren Randzonen sich aber weiterhin noch tagelang ausbreiten, während zunehmend dunkle Massen in den Zellwänden dieser Randzonen sichtbar werden. Sie sterben erst am 3. oder 4. Infektionstag, und zwar von außen nach innen ab.

Sheffield hat schon 1936 die Bildung der normalen Lokalläsionen auf *N. glutinosa* mikroskopisch verfolgt und festgestellt, daß sich nach 12 Std nekrotisches Material bandförmig zwischen der unteren Epidermis und dem Schwammparenchym in den Zellwänden auszubreiten beginnt. Sie beobachtete im Schwammparenchym Kernteilungen ohne nachfolgende Querwandbildung. Keine dieser Erscheinungen wurde im Bereich der y-Läsionen gefunden.

Das schnelle Absterben der Protoplasten von innen nach außen in den y-Läsionen und in den frühen Stadien der normalen Lokalläsionen scheinen identische Vorgänge zu sein. Bei den y-Läsionen fehlt aber vollkommen die weitere Ausbreitung über größere Zellbereiche und die Einlagerung nekrotischen Materials, wie auch der Absterbevorgang der Zellen von außen nach innen dort niemals beobachtet werden konnte. Die Größe solcher y-Läsionen entspricht auffallend dem Durchmesser der hellen Zentren der normalen Läsionen. In besonderen Versuchen

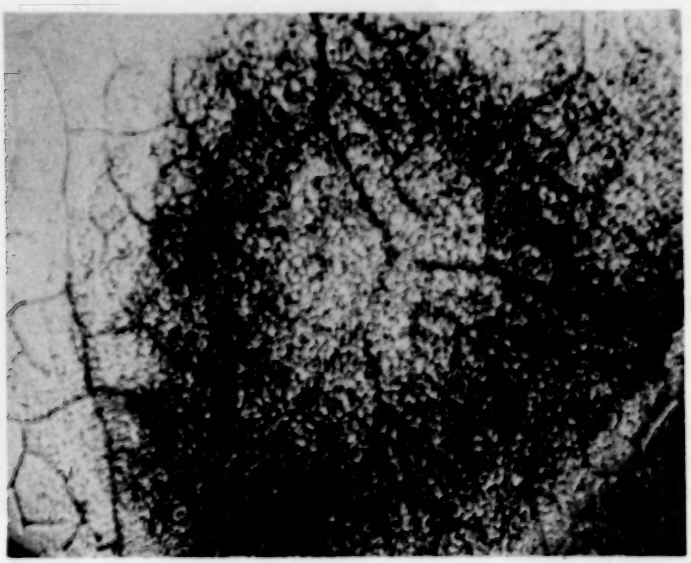


Abb. 15. Normalläsion im Ausbreitungsstadium am 2. Tag nach der Infektion. Mitte abgestorben, Randzone noch lebend. Lupenvergrößerung 16mal.

wurden aus großen normalen Lokalläsionen mehrere 100 dieser Zentren ausgestochen, im Mörser zerrieben, in Wasser suspendiert und wiederum auf *N. glutinosa* und *N. tabacum* verrieben.

Das Resultat waren im ganzen 2 Lokalläsionen, die wahrscheinlich auf unsauberes Ausstanzen zurückzuführen waren, denn die gleichfalls ausgeschnittenen dunklen Randzonen der Läsionen erwiesen sich als hochinfektiv. Mit großer Wahrscheinlichkeit können also die Zentren der normalen Läsionen als nicht infektiv bezeichnet werden. Sie entsprechen daher auch in dieser Hinsicht den y-Läsionen. Auf *N. tabacum* eingeriebene Preßsäfte von Blättern mit y-Läsionen waren bis auf eine Ausnahme nicht infektiv.

An der normalen Läsionsbildung scheinen sich zwei Vorgänge in verschiedener Richtung auszuwirken. Eine begrenzte Ausbreitung eines

toxischen Reizes, der Zellen zum schnellen Absterben zwingt, eine weitere Ausbreitung über diese Letalgrenze hinaus, in der große Mengen von infektivem Stoff synthetisiert zu werden scheinen und eine Begrenzung dieser Ausbreitung von außen nach innen, die mit der Einlagerung phenolhaltiger Körper in die Zellwände beginnt und mit dem zunehmenden Absterben der Zellen von außen nach innen endet. In den y-Läsionen scheint nur der erste Vorgang zur Auswirkung zu

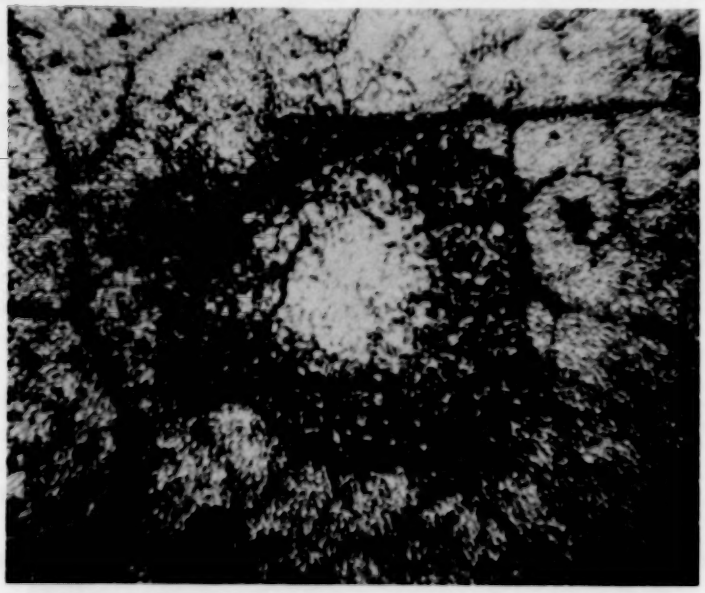


Abb. 16. 4 Tage alte normale Lokalläsion auf *N. glutinosa*. Sämtliche Gewebe der Läsion sind zerstört. Die Infektion breitete sich nicht weiter aus. Lupenvergrößerung 16mal.

kommen. Zwischen diesen winzigen y-Läsionen und den typischen infektiven Lokalläsionen können aber bezeichnenderweise Übergänge festgestellt werden. In Preßsäften aus Blattstücken mit beginnender X-Körperbildung, die ja etwa mit der beginnenden Infektivität zusammenfällt, entstanden nämlich Läsionen mit sehr schmalen, kaum sichtbaren dunklen Rändern (Abb. 17 und 18), die deutlich eine Mittelstellung zwischen einer y-Läsion und einer normalen Läsion einnehmen.

Ist die X-Körperbildung abgeschlossen, so werden keine y-Läsionen mehr auf *N. glutinosa* beobachtet, während kurz vorher zuweilen noch einzelne neben normalen Läsionen auftreten können. Der ganze Übergang von der Bildung von Stoffen, die nur winzige, helle, auf *N. tabacum* nicht infektive Nekrosen erzeugen, über die Zwischenformen, die schwach infektiv sein können, bis zu hochvirulenten Preßsäften kann also im gleichen Blatt innerhalb weniger Stunden vollzogen werden. Daß diese

Dinge bisher nicht beobachtet wurden, scheint daran zu liegen, daß es sich nur um relativ kurzdauernde Stadien nach der Sekundärinfektion über große Entfernungen hinweg handelt, und daß sie überhaupt nur bei bestimmten Blättern mit erster Aderaufhellung im Glutinosatest nachgewiesen werden können. Die Folgeblätter zeigen ja die Aderaufhellung höchstens nur noch an der Spitze und dann überhaupt nicht mehr, d. h., hier werden offenbar die Stufen, wie auch die Marmorierung beweist, nicht mehr gleichmäßig über die gesamte Fläche des Blattes verteilt, sondern, an kleinsten Zentren lokalisiert, nacheinander durchlaufen. Eine Preßsaftgewinnung aus größeren Gewebeteilen, die alle im gleichen Stadium sind, ist dann überhaupt nicht mehr möglich.

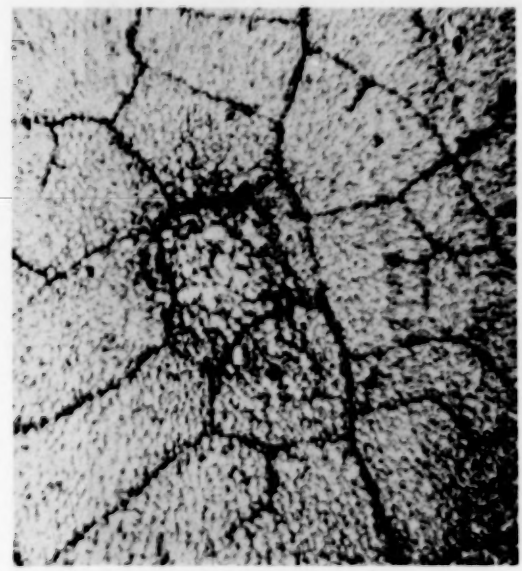


Abb. 17. Übergangsform einer y-Läsion zur normalen Läsion. In den Randzonen und besonders den Geweben der Blattadern ist die Einlagerung von dunklem Material sichtbar. Lupenvergrößerung 20mal.

Es interessieren vielleicht noch einige Angaben über die Infektionsverhältnisse in den älteren Stadien sekundär infizierter Blätter. Wie schon wiederholt erwähnt, beginnt das eigentliche Stadium des Infektivwerdens etwa dann, wenn in den Geweben die ersten X-Körper erscheinen. Der Höhepunkt scheint erreicht, wenn die X-Körperbildung abgeschlossen ist. Danach sinkt im Verlauf von etwa 4 Wochen die Infektionskraft dieser noch X-körperhaltigen Gewebe auf etwa die Hälfte ab. Aber auch die Kristallbildung bezeichnet ein Stadium bereits wieder sinkender Infektivität. Die marmorierten Folgeblätter, in deren weißen Teilen[1] vorzugsweise Kristalle und keine X-Körper gefunden werden, sind, an der Zahl der erzeugten Läsionen im Glutinosatest gemessen, höchstens noch halb so infektiv wie die X-körperhaltigen Gewebe. Die dunkelgrünen Bezirke der noch später gebildeten Blätter, in denen nur noch abnorm viel kleine Chloroplasten, aber keine Einschlüsse mehr gefunden werden,

[1] Beim Gelbstamm.

besitzen kaum noch irgendwelche Infektionskraft. Es findet also eine regelrechte Entwicklung statt mit einem schwer faßbaren Beginn, einem Höhepunkt der Bildung anomaler Nukleoproteide und einer beginnenden Neutralisation dieser Synthese, die in gewissen mikroskopisch erkennbaren Symptomen, wie der X-Körperbildung oder der Kristallbildung ihren äußeren Ausdruck findet. Auf die Folgerungen aus diesen Versuchen wird in der nachfolgenden Diskussion eingegangen werden.

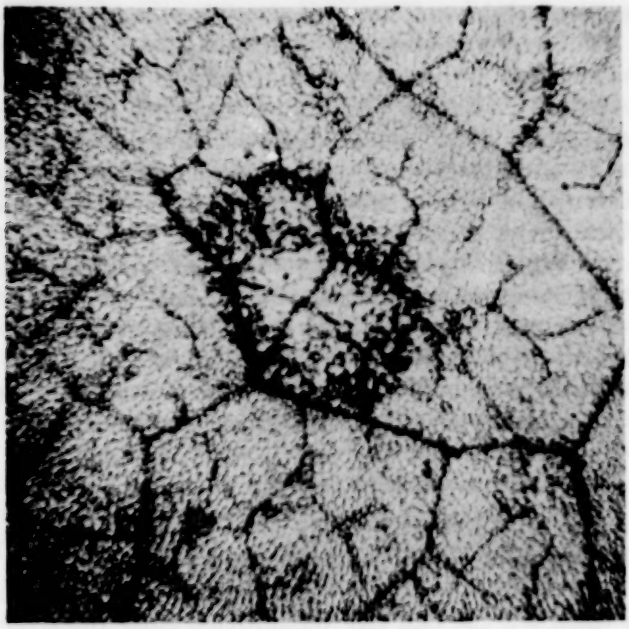


Abb. 18. Übergangsform von einer y- zur normalen Läsion. Lupenvergrößerung 16mal.

VIII. Diskussion der Ergebnisse.

Es fragt sich nun, was aus den vorstehend beschriebenen Versuchen für das Problem der Virusinfektion und Viruswanderung im Pflanzenkörper entnommen werden kann. Die direkte mikroskopische Kontrolle der Infektionsausbreitung durch die isolierte Zellkette eines Haares hat gezeigt, daß die typischen mikroskopisch erkennbaren Symptome einer TMV-Erkrankung kein scharfes Abbild für das primäre Infektionsgeschehen zu geben vermögen. Aus allem, auch den späteren mikroskopischen Kontrollen geht hervor, daß die Bildung von X-Körpern bereits einen Höhepunkt des Krankheitsgeschehens darstellt. Diese X-Körper enthalten sicher große Mengen des hochinfektiven Stanley-schen Nukleoproteids. Aber eben diese erhöhte Bildung infektiöser

Eiweißkörper scheint bereits eine Spätfolge der lange zuvor erfolgten eigentlichen Infektion zu sein. Zwar nimmt die Infektion ihren Ausgang von diesen makromolekularen Nukleoproteiden. Die Frage aber ist, ob diese riesigen „Moleküle" selbst überhaupt wanderungsfähig und damit Träger der Virusausbreitung im Pflanzenkörper sein können.

Das Studium der Primärinfektion eines Blattes ergab, daß in der ersten Zeit nach der Infektion kein infektiöses Nukleoproteid aus dem infizierten Blatt wieder zurückgewonnen werden kann. Erst nach einer gewissen Inkubationszeit steigt die Infektivität der Preßsäfte rasch an, zusammen mit dem Erscheinen von X-Körpern in den verschiedensten Zellen des infizierten Blattes. Dies könnte natürlich nur eine Folge der relativen Unempfindlichkeit des verwendeten Glutinosatestes sein. Nach ANDERSON (1949) liegt das Infektionsverhältnis für das TMV etwa bei der Größe von 10^{-5}. KLECZKOWSKI (1949) hat auf die quantitative Unsicherheit des Glutinosatestes hingewiesen. Das Ausbleiben von Läsionen im Glutinosatest bedeutet also nicht, daß überhaupt kein Virusmolekül im Preßsaft vorhanden ist, sondern nur, daß die Viruskonzentration unter einem gewissen Schwellenwert bleibt. Diese Beziehung hat der Glutinosatest natürlich grundsätzlich mit jeder quantitativen Methode gemein. Doch muß die Tatsache, daß theoretisch ein einziges Virusmolekül unter Umständen genügen könnte, um in progressiver Form seinesgleichen zu erzeugen, selbstverständlich bei unserem Problem zu besonderer Vorsicht mahnen.

Wenn aber nun auch auf Grund dieser Tatsache die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden kann, daß sich die infektiven Nukleoproteide nach ihrer Inokulation einfach wegen zu geringer Menge dem Nachweis entziehen und daß das Neuauftreten einer Infektivität nach einer gewissen Inkubationszeit nichts anderes als die Erreichung der Schwellenkonzentration durch das neugebildete Virus bedeutet, so scheint doch noch eine ganz andere Erklärung möglich zu sein. Es wäre nämlich auch denkbar, daß das vorübergehende Verschwinden der Infektivität dadurch zustande kommt, daß sich das infizierende Virus bei seinem Angriff auf das gesunde Plasma einer Zelle zunächst in kleiner molekulare Spaltstücke verwandelt und daß diese Spaltstücke oder irgendwelche unter ihrem Einfluß gebildeten anderen Substanzen nachher die Träger des eigentlichen Krankheitsgeschehens sowohl in der befallenen Zelle selbst als auch bei der Ausbreitung der Erkrankung von Zelle zu Zelle wären. Es müßte in diesem Falle nur angenommen werden, daß zu einem gewissen Zeitpunkt der Erkrankung diese Stoffe wieder die Bildung des eigentlichen hochmolekularen und infektiven Nukleoproteids herbeiführen, das nun plötzlich in großer Menge in den

Zellen erscheint[1] und in der Form von Einschlußkörpern sogar ausgeschieden wird. Merkwürdig wäre hier nur die Tatsache, daß die Primärinfektion von außen her eben nur mit solchen fertigen Nukleoproteiden gelingt und nicht auch mit Spaltstücken und daß diese hypothetischen Spaltprodukte so schwer zu isolieren sein sollten. Vielleicht liegt die Erklärung aber eben darin, daß nur die relativ stabilen Endprodukte die Isolierung zu überdauern vermögen, während das eigentliche, im Organismus infektiöse Agens instabil ist.

Nun haben aber die weiteren Studien über die Verbreitung der Infektion durch den ganzen Pflanzenkörper gerade für diese letzte Deutung doch eine Reihe beachtlicher Befunde ergeben. Während die Ausbreitung von Zelle zu Zelle so langsam vor sich geht, daß sie fast unter die Diffusionsgeschwindigkeit absinkt (ein starker Hinweis dafür, daß intensive Stoffwechselvorgänge, eventuell Neubildungen aus dem eigentlichen infektiven Agens der Ausbreitung vorangehen und keine einfache passive „Verschwemmung" des infizierenden Moleküls mit dem Assimilatstrom in Frage kommt), erfolgen später nach einer längeren Inkubationszeit im Blatt, offenbar mehr oder weniger stoßweise, sehr rasche Translokationen zunächst meist nach der Wurzel, unter Umständen aber auch nach aufwärts in den Sproß. Das Auffälligste dieser Ferntransporte ist dabei weniger ihre Geschwindigkeit, die die maximale Geschwindigkeit organischer Stofftransporte erreicht, als vielmehr die auch in dieser Arbeit immer wieder bestätigte Tatsache, daß ganze Sproßstücke lange Zeit keine Infektivität verraten, obwohl das infektive Agens durch sie hindurchgeleitet worden sein muß.

Nach allen bisherigen Erfahrungen wird man nicht fehlgehen, wenn man diesen Ferntransport des infektiösen Agens in die Siebröhren selbst hinein verlegt. Nun sind diese Siebröhren aber die einzigen lebenden Zellelemente, in denen bisher noch nie mit Sicherheit irgendwelche Krankheitssymptome, etwa die Bildung eines X-Körpers u. dgl., wahrgenommen worden sind. Dies könnte verschiedene Ursachen haben. Es könnte sein, daß das Plasma der kernlosen Siebröhren eben wegen der

[1] Meneghini hat neuerdings [Biol. Abstr. D 25, 11 (1951). Ref. 24968] gefunden, daß bis zum 5. Tag nach der Inokulierung von Tabak mit TMV 4mal so viel N^{15} in die Virusnukleotidfraktion eingebaut wird als in die normalen Zellproteine. Danach fällt der N^{15}-Einbau in das TMV stark ab, während er bei den Zellproteinen konstant bleibt. Am 30. Tag nach der Infektion ist im primär infizierten Organteil praktisch kein N^{15} mehr in der TMV-Fraktion nachweisbar. Das würde bedeuten, daß während einer begrenzten Syntheseperiode des Virus N^{15}-Verbindungen (eventuell Aminosäuren) als Bausteine benutzt werden, deren N einem lebhafteren Austausch unterliegt, als dies in den normalen extrahierbaren Zellproteinen der Fall ist. Vom 5. bis zum 30. Infektionstag wird die Virusbildung zunehmend irreversibel. Das Virusnukleoproteid verhält sich dann in der Zelle wie ein fremdes Protein und steht nicht mehr im Gleichgewicht mit anderen Zellkonstituenten.

Bedeutung des Kernes für die Nukleoproteidsynthese nicht in der Lage ist, eine Reproduktion eingedrungenen und in ihm sich ausbreitenden und wandernden Nukleoproteids vorzunehmen, wie dies das normale Plasma tut. Dies würde also eine völlige Immunität gegen das Pathogen bedeuten, die gerade bei diesen empfindlichsten Organen des Pflanzenkörpers recht erstaunlich erscheinen müßte. Es wäre aber auch denkbar, daß in die Siebröhren überhaupt kein Virusnukleoproteid in der isolierbar infektiven Form hineingelangte und in ihnen weitergeleitet würde, sondern etwas ganz anderes, und daß die Siebröhren nur nicht in der Lage sind, daraus den infektiven Stoff aufzubauen. Wie schon wiederholt erwähnt, muß es ja als sehr unwahrscheinlich erscheinen, daß derartig große Moleküle, wie es diese anomalen Nukleoproteide mit einem Molekulargewicht von über 40 Millionen sind, überhaupt wanderungsfähig sein sollten. Man hat bei dem Übertritt von Zelle zu Zelle wohl daran gedacht, daß sie die Plasmodesmen gleichsam „durchwachsen" könnten (KÖHLER 1947 u. a.), allein wir wissen ja noch in keinem einzigen Falle etwas darüber, ob die Plasmodesmen wirklich die normalen Bahnen des Stofftransportes zwischen den Zellen sind, und wir wissen noch weniger etwas darüber, daß im normalen Eiweißstoffwechsel der Zelle fertiges Eiweiß wandert. Alle bisherigen Erfahrungen deuten vielmehr auf einen vorherigen Abbau des Eiweißes, mindestens bis zu den Aminosäuren, und es ist nicht recht einzusehen, warum dies beim Transport der hochmolekularen Virusnukleoproteide anders sein sollte. Es ist also viel eher damit zu rechnen, daß auch in die Siebröhren bei einem Ferntransport nicht das Virusmolekül selbst eindringt, sondern ein kleineres Spaltstück. Zwar sind die Cucurbitaceen Paradebeispiele dafür, daß auch im Inneren von Siebröhren Synthese und Speicherung von Eiweiß möglich ist, aber wir wissen doch, daß die meisten der anderen Pflanzen in ihren Siebröhren keine größeren Mengen von Eiweiß enthalten.

Sind diese Überlegungen richtig, dann erklärt sich aber die Tatsache, daß ganze Stengelzonen trotz einer durch sie hindurchgeleiteten Virusinfektion frei von nachweisbarer Infektivität sind, sehr einfach damit, daß eben in diesen Leitelementen gar keine infektiven Nukleoproteide geleitet werden, sondern irgendein kleineres, im isolierten Zustand nicht infektives Agens, das erst nach seinem Wiederaustritt in normale Parenchymzellen daselbst die Resynthese anomaler Nukleoproteide anregt, während es in den Siebröhren selbst nicht zu einer solchen Synthese kommt. Ein solcher Austritt dürfte aber nach allen Erfahrungen über den Ferntransport auch der normalen Stoffwechselprodukte auf den Zwischenstrecken kaum erfolgen. Das spätere Infektivwerden dieser Sproßzonen, wie es in den Abb. 11 und 13 dargestellt ist, zeigt aber, daß sehr viel später doch auch ein solcher Übertritt möglich ist, sofern hier nicht die lang-

same Ausbreitung im Parenchym ursächlich in Frage kommt. Für diese Erklärung sprechen nun aber ganz besonders auch die Beobachtungen über die Sekundärinfektion der Sproßspitzen. Es konnte hier ja gezeigt werden, daß in einem ganz bestimmten Frühstadium einer solchen, durch eine Fernleitung über große Strecken zustande kommenden, Infektion der jungen Triebspitze kurzfristig in gewissen Blättern ein Zustand eintritt, bei dem das gesamte Blatt deutliche Symptome der Erkrankung, nämlich Aderaufhellung zeigen kann, ohne daß Infektivität im Glutinosatest nachzuweisen ist. Die Protoplasten der Zellen ausgedehnter Gewebekomplexe zeigen Zelle für Zelle die Frühstadien der Erregung mit aufgequollenem, stark strömenden Plasma, während die X-Körper noch völlig fehlen. Wie schon erwähnt, sind diese Symptome gleichzeitig und gleichmäßig bei fast allen Zellen der Parenchyme und Epidermen im ganzen Blatt zu beobachten; es kann also keine Rede davon sein, daß sich vielleicht irgendwo ein *einzelnes* eingeschwemmtes Virusmolekül festgesetzt haben könnte, das sich zunächst dem Nachweis im Test entziehen, gleichwohl aber Ausgangspunkt einer späteren Neuinfektion werden könnte. In kürzester Frist entwickeln sich nun in einem solchen Blatt, auch wenn es von der primären Infektionsquelle getrennt wird, infektive Substanzen in großer Menge, und zwar wieder in allen Blatteilen gleichzeitig, so daß kein Zweifel sein kann, daß die Infektion, aus der heraus sich diese Entwicklung vollzieht, ebenfalls schon vorher über das ganze Blatt gleichmäßig verteilt gewesen sein muß. Das Interessanteste ist nun aber der Befund, daß auch im Glutinosatest eine stufenweise Entwicklung der für das infektive, isolierte Nukleoproteid typischen Testläsion nachgewiesen werden kann. In den ersten noch nicht infektiven Frühstadien entstehen aus den Preßsäften solcher Blätter auf *N. glutinosa* nur wenige, bisher nicht beobachtete „y-Läsionen" ohne dunklen Rand. Die beginnende Infektivität, die parallel mit dem Erscheinen der ersten X-Körper in dem befallenen Blatt geht, dokumentiert sich am Glutinosablatt in deutlichen Übergangsbildungen zu den Normalläsionen, die endlich zugleich mit dem Höhepunkt der X-Körperbildung und der Infektivität in üblicher Weise zur Ausbildung kommen. Dies kann nicht allein auf einer quantitativen Basis erklärt werden, sondern deutet eben auf eine stufenweise Synthese des infektiösen Nukleoproteids aus Substanzen, die allein nur y-Läsionen verursachen und isoliert nicht infektiv sind. *Diese Substanzen dürften nun aber auch die vermuteten eigentlichen Wander- und Transportformen des Virus sein oder sich stufenartig aus ihnen gebildet haben.* Daß sie nur sehr kurzfristig und nur in ganz bestimmten Blättern der Sproßspitze nachzuweisen sind, während die weiterhin von der Spitze erzeugten Blätter ganz andersartige Symptome zeigen, bedeutet keinen Einwand gegen die vorgetragene

Ansicht. Es handelt sich bei der ganzen Erscheinung höchstwahrscheinlich um einen nur vorübergehenden einmaligen Ausstoß größerer Mengen dieses hypothetischen Wanderstoffes, der nach längerer Latenz in der Wurzel in einem gewissen Entwicklungsstadium der jungen Organe der Vegetationsspitze vielleicht in den Siebröhren über große Entfernungen transportiert wird und dann gleichzeitig die jüngsten Blattkreise überschwemmt[1]. Theoretisch müßten diese Stoffe natürlich auch bei jedem Übertritt von Zelle zu Zelle erscheinen. Ihr Nachweis im Glutinosatest als y-Läsionen dürfte aber wahrscheinlich nur dann gelingen, wenn wirklich ein größerer Gewebeverband gleichmäßig überschwemmt ist und damit die nötige Stoffmenge verfügbar wird, nicht aber wenn, wie das bei der späteren Ausbreitung der Erkrankung im Vegetationspunkt der Fall sein dürfte, der langsame Übertritt von Zelle zu Zelle mit der sofortigen Weiter- und Umwandlung in infektives Nukleoproteid erfolgt. Dies wird nur ganz kurze Zeit nach einem typischen Ferntransport der Fall sein. Indessen gelang es einige Male, mit Preßsäften aus Primärläsionen des Gelbstammes kurz nach Auftreten der Infektivität auf *N. glutinosa*, neben normalen Läsionen einige wenige „y"-Läsionen zu beobachten.

Die hier vorgetragene Vorstellung, daß vielleicht niedrigermolekulare, isoliert nicht infektive Substanzen die eigentlichen Träger der Viruswanderung sind, steht nun keineswegs allein. So hat bekanntlich SCHRAMM (1947) rein dargestelltes TMV-Nukleoproteid in kleinere Einheiten zerlegen können, die nicht mehr infektiv waren, obwohl sie serologisch noch die volle Aktivität des TMV-Proteids zeigten. TAKAHASHI und RAWLINS (1949) fanden elektronenoptisch in Preßsäften etwa 30%, im Preßrückstand sogar 70% der Virusteilchen nur von einer mittleren Länge von 900 Å, wobei allerdings nach den neuesten Befunden von SCHRAMM (1951) die Präparationstechnik ursächlich beteiligt gewesen sein könnte, und auch PIRIE (1948) und BAWDEN und PIRIE (1950) beobachteten während der Reindarstellung des anomalen Nukleoproteids aus erkrankten Pflanzen einen beträchtlichen Prozentsatz langsamer sedimentierender Teilchen, die sich im Test nicht als infektiv erwiesen, obwohl sie serologisch mit der infektiven Fraktion identisch schienen. Von medizinischer Seite wurden von GÅRD und v. MAGNUS (1947) beim Influenzavirus zwei Arten von Partikeln festgestellt, eine kleinere nichtinfektive und eine größere infektive. In den ersten Stadien der Infektion sind nur 0,01% aller Partikel von der größeren Art, und die

[1] Nach der einmal erfolgten Infektion des Spitzentriebs scheint dieser Mechanismus der Infizierung über lange Strecken außer Funktion gesetzt zu sein, ein Problem, das vielleicht mit der Erscheinung partieller Immunität der Pflanze im späten Infektionsstadium zusammenhängt. Untersuchungen über diese Frage sollen im Rahmen einer Arbeit über die Mechanik der Virusausbreitung beschrieben werden.

Autoren glauben, daß allein die kleineren, nichtinfektiven Partikel die Überträger im Organismus sind. Auch HOYLE hat neuerdings (1948) gefunden, daß beim Influenzavirus vor dem Auftreten infektiver Viruspartikel kleinere, nichtinfektive, aber serologisch identische Teilchen erscheinen.

Fassen wir sämtliche in der vorliegenden Arbeit gemachten Beobachtungen und Erfahrungen zusammen, die mikroskopischen Beobachtungen des relativ späten Erscheinens infektiver X-Körper sowie der Infektivitätsverhältnisse nach einer Primärinfektion, die für die Mechanik des Stofftransports immer sehr schwer zu erklärende Tatsache des Nichtinfektivbleibens ganzer durchwanderter Achsenteile, und endlich die Erscheinung der Sekundärinfektion an Sproßspitzen, so wird man sagen müssen, daß es sicher die zur Zeit ungezwungenste Erklärung ist, anzunehmen, daß nicht die Riesenmoleküle des isolierbaren Virusnukleoproteids, sondern irgendwelche kleineren, nichtinfektiven Spaltstücke die eigentlichen Träger der Virusverbreitung und Viruswanderung im Pflanzenkörper sind. Über die chemische Natur dieser Substanzen kann zur Zeit noch nichts gesagt werden. Ihr erster Nachweis scheint in den y-Läsionen des Glutinosatestes möglich geworden zu sein. Hier werden weitere Versuche ansetzen müssen.

Ist die hier gegebene Vorstellung richtig, dann erübrigt es sich aber, über die Mechanik des Transportes irgendwelche Aussagen machen zu wollen. Daß Sproßstücke frei von Infektivität bleiben, kann nicht mehr als Beweis für eine „Verschwemmung" des Virus im „Assimilatstrom" dienen, wenn gar nicht das im isolierten Zustand infektive Molekül selbst, sondern etwas anderes transportiert wird. Aber auch die Beobachtung, daß häufig die Richtung der Infektionsausbreitung dorthin zielt, wohin vermutlich gleichzeitig auch Assimilate transportiert werden (BENNETT u. a.), gestattet keinen wirklichen Rückschluß auf den zugrunde liegenden Transportmechanismus. Es sind in dieser Arbeit manche Beobachtungen niedergelegt, vor allem die über den Einfluß der Vegetationspunkte auf die Transportrichtung (Abschnitt VI), die das Problem der Wanderungsrichtung- und -steuerung als viel komplizierter erscheinen lassen. So zeigten meine Befunde, daß erst nach dem Abschneiden bzw. nach der Infektion der Vegetationspunkte die Ausbreitung auch in die seitlichen Blätter der Achse erfolgt, klar, daß hier eine Viruswanderung *gegen* einen eventuellen Assimilatstrom erfolgen muß. Es ist völlig ausgeschlossen, daß diese voll ausgewachsenen und assimilierenden Blätter nach der Ausschaltung der Vegetationspunkte plötzlich ihren eigenen Assimilatstrom abstoppen und selbst zu Empfängern fremder Ströme werden sollten, zumal keine Spur einer Assimilatstauung in ihnen nachgewiesen werden konnte. Daß häufig

Assimilate und Virusinfektion in gleicher Richtung wandern, ist wahrscheinlich nur eine zwar oft vorkommende Parallele, die aber keineswegs eine Kausalverknüpfung gestattet, geschweige denn eine Aussage über den zugrunde liegenden Mechanismus erlaubt. So könnten alle bisherigen Beobachtungen ebensogut als Molekülwanderung wie als Massenströmung gedeutet werden. Auch könnte gerade meine Beobachtung über die steuernde Wirkung der Vegetationspunkte viel eher durch eine Parallelsetzung von Wuchsstofftransport und Virustransport erklärt werden. Solange unsere Kenntnisse des Transportes normaler organischer Substanzen im Pflanzenkörper so gering sind, wird man jedenfalls gut tun, bei so schwierigen Fragen, wie es die der Viruswanderung sind, größte Vorsicht in der Ausdeutung der Phänomene und in der Übertragung derselben auf den normalen Transportmechanismus walten zu lassen, auch wenn an und für sich kein Grund zu der Annahme besteht, daß die Überträger der Viruserkrankung in anderer Weise transportiert werden als die normalen Produkte des Stoffwechsels.

IX. Zusammenfassung der Ergebnisse.

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch gemacht, den Infektionsvorgang und die Ausbreitung der Infektion des Tabakmosaikvirus in Tabakpflanzen sowohl mikroskopisch wie durch Testung der Infektivität näher zu erfassen.

1. Bei unmittelbarer mikroskopischer Beobachtung der Infektionsausbreitung durch die Zellketten von Haaren wurde gefunden, daß die typischen Krankheitssymptome, wie verstärkte Plasmaströmung, Chloroplastenteilung und -degeneration, X-Körper- und Kristallbildung in der zeitlichen Aufeinanderfolge ihres Auftretens kein sicheres Kennzeichen dafür sind, wann das erste Agens der Infektion die Zelle erreicht. Insbesondere ist die Ausbildung von Einschlußkörpern als Anzeichen für die starke Bildung abnormer Nukleoproteide erst eine Spätfolge der Erkrankung und nicht ihr Anfang, obwohl infektive Substanz erst etwa gleichzeitig mit dem Auftreten von X-Körpern isolierbar wird.

2. Bei der Primärinfektion eines Laubblattes, die wiederum auch in den mikroskopisch erkennbaren Symptomen genau verfolgt wurde, läßt sich in den ersten 24 Stunden nach der Inokulation kein infektiöser Stoff im Glutinosatest nachweisen. Erst nach einer gewissen Inkubationszeit steigt auch die Infektivität des infizierten Blattes zunächst langsam, dann steil an.

3. Nach einer Periode langsamer Ausbreitung der Infektionszonen innerhalb der Blattlaminae erfolgt nach Erreichen der Blattnerven wiederum nach einer gewissen Verzögerungszeit eine rasche Fernleitung

der Infektion zunächst vorzugsweise zur Wurzel, wobei aber ganze Teile der durchwanderten Achsen keine Infektivität erkennen lassen.

4. Die Ausbreitung der Infektion in die oberirdischen Teile einer Pflanze scheint vielfach erst von der Wurzel aus zu erfolgen, wenn die Infektionsquelle nicht von vornherein sehr nahe an der Sproßspitze gelegen war oder die Bildung von Blütenknospen bzw. von reifenden Samen ein besonderes Steuerungszentrum erzeugt. Die intakten, nicht infizierten Vegetationspunkte des Sprosses und der Wurzel haben einen gewissen Einfluß auf die Richtung, in der sich die Infektion ausbreitet. Sind sie selbst infiziert, so ändert sich die bisherige Ausbreitungsrichtung unter Umständen auch gegen den Assimilatstrom. Wiederum bleiben bei diesen Fernleitungen der Infektion ganze Achsenteile frei von Infektivität.

5. Die sekundäre Infektion der Sproßspitze von irgendeiner fern gelegenen Quelle, etwa von der Wurzel aus, läßt an bestimmten jungen Blättern ein makroskopisch und mikroskopisch nachweisbares im Glutinosatest kurzfristig nicht oder schwach infektives Stadium erkennen, dem schnelle Steigerung der Infektivität solcher Blätter folgt. Diese entwickelt sich auch in abgeschnittenen und somit von der Infektionsquelle getrennten Blättern in raschem Tempo aufs neue, wobei X-Körperbildung und nachweisbare Infektivität wiederum etwa parallel gehen. Bei deutlich als infiziert gekennzeichneten Blättern erzeugen Preßsäfte auf *N. glutinosa* eigenartige, bisher nicht beobachtete kleine „y"-Läsionen, während nach dem Infektivwerden des Blattes zunehmend nur Normalläsionen gebildet werden.

6. Es wird daraus geschlossen, daß die Fernausbreitung der Viruserkrankung wie auch der Übertritt von Zelle zu Zelle durch vielleicht kleinermolekulare, nicht infektive Substanzen erfolgt, unter deren Einwirkung, bzw. aus denen später immer wieder aufs neue die charakteristischen stäbchenförmigen Nukleoproteide des TMV entstehen mögen.

Literatur.

Anderson, T. F.: Cold Spring Harbour Symp. Quant. Biol. **11**, 1 (1947). Zit. nach Ber. Biol. **64**, 274. — Bawden, F. C.: Plant Viruses and Virus diseases. Waltham, Mass. USA. 1950. — Bawden, F. C., and N. W. Pirie: Brit. J. Exper. Path. **26**, 277 (1945). — J. Gen. Microbiol. **4**, 482 (1950). — Bawden, F. C., N. W. Pirie, J. D. Bernal and I. Fankuchen: Nature (Lond.) **138**, 1051 (1936). — Bennett, C. W.: J. Agricult. Res. **48**, 665 (1934); **54**, 479 (1937); **60**, 361 (1940). Bot. Review. **6**, 427 (1940). — Phytopathology **33**, 818 (1943). — Bernal, J. D., and I. Fankuchen: Nature (Lond.) **162**, 139 (1941). — Best, R. J.: Austral. J. Exper. Biol. a. Med. Sci. **14**, 199 (1937); **22**, 251 (1944). — Caldwell, I.: Ann. Appl. Biol. **17**, 429 (1930); **18**, 279 (1931); **21**, 191 (1934). — Capoor, S. P.: Ann. Appl. Biol. **36**, 307 (1949). — Esau, K.: Phytopathology **23**, 679 (1933). — Bot. Review **4**, 548 (1938). — Hilgardia **11**, 343 (1938); **13**, 427 (1941). — Esau, Katherine: Some anatomical aspects of plant virus disease problems. II. Bot. Review

14, 7, 413 (1948). — Goldstein, B.: Bull. Torrey Bot. Club **53**, 499 (1926). — Gård, J., u. T. v. Magnus: Ark. Kem., Mineral. Geol., Ser. B **24**, 8 (1947). — Holmes, F. O.: Bot. Gaz. **87**, 39 (1929). — Amer. J. Bot. **17**, 789 (1930). — Contr. Boyce Thompson Inst. **3**, 163 (1931); **4**, 297 (1932). — Hoyle, L. M.: Brit. J. Exper. Path. **29**, 390 (1948). — Johnson, J.: J. Agricult. Res. **54**, 239 (1937). — Kleczkowski, A.: Ann. Appl. Biol. **36**, 139 (1949). — Köhler, E.: Biol. Zbl. **62**, 203 (1942). — Z. Naturforschg **26**, 29 (1947). — Kunkel, L. O.: Phytopathology **24**, 437 (1934); **29**, 684 (1939). — Lauffer, M. A.: J. Amer. Chem. Soc. **66**, 1188 (1944). — Martin, L. F., A. K. Balls and H. H. McKinney: J. of Biol. Chem. **121**, 205 (1939). — McKinney, H. H., and C. H. Hills: Science (Lancaster, Pa.) **94**, 372 (1941). — Melchers, G., G. Schramm, H. Trurnit u. H. Friedrich-Freksa: Biol. Zbl. **60**, 524 (1940). — Pirie, N. W.: Med. Bull. **5**, 329 (1948). — Schramm, G.: Z. Naturforschg **2b**, 112 (1947); **6b**, 379 (1951). — Schramm, G., u. Bergold: Z. Naturforschg **2b**, 108 (1947). — Sheffield, F. M. L.: J. Roy. Microsc. Soc. **61**, 30 (1941). — Smith: K. M.: Recent advances in the study of plant viruses. London 1951. — Spencer, E. L.: Plant Physiol. **16**, 227 (1941). — Stanley, W. M.: Science (Lancaster, Pa.) N. S. **81**, 644 (1935). — Phytopathology **26**, 305 (1936). — Takahashi, W., and T. E. Rawlins: Phytopathology **39**, 672 (1949). — Uppal, B. N.: Indian J. Agric. Sci. **4**, 865 (1934). — Youden, W. J., and H. P. Beale: Contr. Boyce Thompson Inst. **6**, 437 (1934). Zit. nach Bawden, Plant viruses and virus diseases, 1950 (S. 152).

Dr. H. Zech, Stockholm 60 (Schweden),
Institut för Cellforskning och Genetik.

Planta, Bd. 40, S. 515—528 (1952).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

STUDIEN ZUM HETEROPHYLLIEPROBLEM.

I. Mitteilung.

Von

LEOPOLD BAUER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Januar 1952.)

I. Einleitung.

Die ersten Ansätze zu einer experimentellen Bearbeitung des Heterophyllieproblems gehen wohl auf ASKENASY (1870) zurück, der *Ranunculus aquatilis* untersuchte. Seine Arbeit trägt aber noch vorwiegend deskriptiven Charakter. Erst GOEBEL (1908) konnte auf Grund umfangreicherer Versuche mit amphibischen Pflanzen eine vorläufige Vorstellung über das Zustandekommen der verschiedenen Blattausbildung geben. Er knüpft an die Ansicht von KLEBS (1903, 1904) an, daß das Verhältnis der organischen Stoffe zu den anorganischen Nährstoffen für die Entwicklung der Pflanze entscheidend sei. Überwiegen der Assimilate soll danach die höhere Differenzierungsstufe, die Landform (Folgeform), und das umgekehrte Verhältnis die Wasserform (Jugendform) hervorrufen (vgl. auch WOLTERECK 1928).

Bei *Ranunculus aquatilis* mit seiner dreifachen Heterophyllie gehören aber sowohl Wasser- als auch Landblatt zur Jugendform, während das häufig nierenförmige „Laubblatt"[1] die Folgeform darstellt (GLÜCK 1924). Innerhalb der Jugendform fällt also schon die Entscheidung, ob die höhere oder niederere Differenzierungsstufe erreicht wird. Der auffallendste Unterschied zwischen beiden besteht in der anatomischen Ausbildung der Blätter (Abb. 1). Das Auftreten der Laubblätter ist wieder ein Problem für sich.

GESSNER (1940) glaubt die Erscheinung der Heterophyllie so erklären zu können, daß eine Hemmung der Unterwasserassimilation der ersten noch embryonalen Blättchen in der Knospe für die Ausbildung der Wasserform verantwortlich sei. Der Ausfall an Kohlenhydraten soll den osmotischen Wert der Zellen erniedrigen und damit zu einer Förderung des Streckungswachstums führen. Er will mit seiner Interpretation

[1] Ich bevorzuge den von GESSNER vorgeschlagenen Namen, da die von GLÜCK verwendete Benennung „Schwimmblätter" nicht für die entsprechende Blattausbildung an Landpflanzen zutrifft und die von ASKENASY gebrauchte Bezeichnung „Gegenblätter" nur ihre Stellung zur Blüte ohne Rücksicht auf ihre morphologische Ausbildung ausdrückt.

eine Brücke von der Auffassung GOEBELs zu der französischer Autoren (MOLLIARD 1933, COMBES 1936, GERTRUDE 1938) schlagen.

So viele Arbeitskreise — so viele Meinungen. Zweifellos sind die unterschiedlichen Auffassungen durch die Eigenart der verschiedenen Objekte bedingt. Bevor nicht die zahlreichen heterophyllen Pflanzen unter einheitlichen Gesichtspunkten untersucht sind, muß man sich

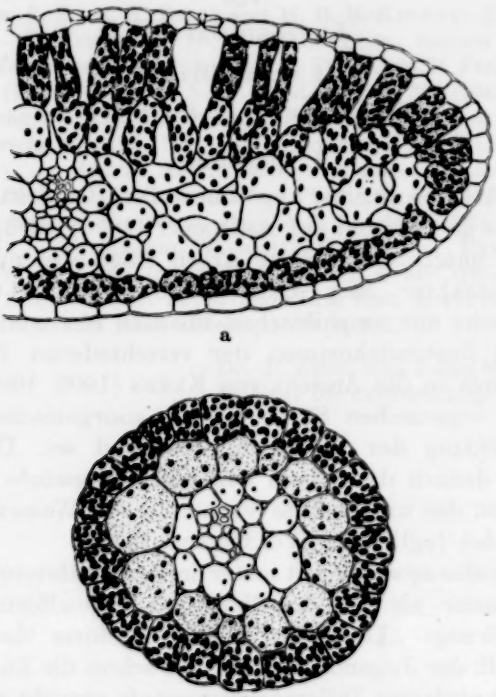


Abb. 1a u. b. Querschnitte durch a Landblatt, b Wasserblatt von *Ranunculus aquatilis*. Punktierung deutet Anthocyangehalt der Zellen nach Zuckerfütterung an. Vergr. 100fach.

hüten, spezielle Befunde zu verallgemeinern. Die vorliegende Arbeit hat zunächst nur das begrenzte Ziel, die Verhältnisse bei den Wasserranunkeln einer Lösung näherzubringen; sie läßt daher direkte Vergleiche nur mit den Untersuchungen von ASKENASY und GESSNER, der mit *R. Baudotii* gearbeitet hat, zu.

Material.

Für meine Versuche verwendete ich vorwiegend *R. aquatilis*, und zwar von folgenden Standorten: St. Joseph (Steiermark), Nortorf (Schleswig-Holstein), Raddack (Pommern) und Botanischer Garten München. *R. Baudotii*, den GESSNER seinerzeit aus Hiddensee nach München ver-

pflanzt hat, stand mir im hiesigen Botanischen Garten ebenfalls zur Verfügung. Schließlich wurde noch *R. trichophyllus* aus einem Bach bei Dachau in die Untersuchungen einbezogen. Im wesentlichen verhielten sich alle Arten gleich, nur bildete *R. Baudotii* in meinen Kulturen keine Laubblätter, obwohl GESSNER solche vom natürlichen Standort beschreibt; bei *R. trichophyllus* ist die Laubblattbildung ganz verlorengegangen.

Wo es angängig war, wurden die Pflanzen für die Versuche direkt vom Standort geholt. Zum Teil wurden auch solche verwendet, die im Aquarium gezogen waren. Die Wasserranunkeln halten sich darin zwar sehr lange und kommen auch zur Blüte, aber wenn das Wasser nicht ausgiebig durchlüftet wird, faulen die älteren Blätter ziemlich rasch. Nur in gut durchlüfteten Aquarien kann man kräftige und lange, bis unten hin beblätterte Wassersprosse ziehen, die frischen Pflanzen vom Standort in ihrem Verhalten gleichwertig sind.

II. Die Versuche.

Bevor an eine Feinanalyse des Heterophyllieproblems gedacht werden kann, muß die Kenntnis des Reaktionsvermögens der Versuchspflanzen auf gut definierte Faktoren weiter vertieft werden. Geprüft wurde vor allem das Verhalten gegenüber Licht-, Temperatur- und Feuchtigkeitsunterschieden. Dabei zeigte sich bald, daß die Wirkungen dieser Faktoren auf die Blattdifferenzierung in einer ganz bestimmten Abhängigkeit voneinander stehen. Von großer Bedeutung für den Ausgang der Versuche war auch die *Vorkultur* der Pflanzen. Vor allem war es entscheidend, ob die Pflanzen vor Versuchsbeginn gut oder schlecht ernährt waren.

1. Abhängigkeit der Blattbildung vom Licht.

a) Assimilationsintensität. Versuche mit verschiedenfarbigem Licht ließen eindeutig erkennen, daß nur die roten Strahlen (Schottglas RG 1) eine Förderung der Landblattbildung bedingen. Man ist also wohl berechtigt, im Sinne der alten GOEBELschen Auffassung die Lichtwirkung ausschließlich über die Assimilationsleistung zu erklären.

Ist aber wirklich nur die Assimilationsintensität der *Knospe* für den Differenzierungsablauf entscheidend, wie GESSNER annimmt? Folgende eigene Versuche sprechen dagegen: Es wurden Knospen von Landpflanzen unter Wasser gesetzt, mit Stanniol verdunkelt oder sogar mit einem Gemisch von Kohlepulver und Vaseline verschmiert und damit auch noch der Gasaustausch reduziert, während die übrigen Blätter an der Luft kräftig assimilieren konnten (Juli, Schönwetterperiode); trotzdem brachte aber die Knospe unentwegt ein Landblatt nach dem anderen hervor. Die neugebildeten Blätter hatten bei Verdunkelung der Knospe

lediglich stark verlängerte Blattstiele und waren, bis sie ans Licht kamen, chlorophyllfrei. Wurden andererseits alle Blattspreiten unter Wasser gesetzt, mit Vaseline verschmiert oder verdunkelt, die Knospen aber unter normalen Bedingungen belassen, dann hing es von *weiteren* Faktoren ab, ob die Landform jetzt Land- oder aber Wasserblätter bildete. Doch davon soll erst in späteren Abschnitten die Rede sein.

Wie wenig Einfluß die Assimilation der Knospe auf die Ausgestaltung der Blätter hat, muß auch aus folgenden Beobachtungen geschlossen werden: Bei Versuchen unter extremen Kurztagbedingungen (8 Std und noch weniger Belichtungszeit) wurden merkwürdige Unterschiede in der Blattfärbung zwischen Licht- und Dunkelphase beobachtet. Beim Einschalten des Lichtes fiel jedesmal auf, daß die Blätter im Dunkeln merklich bleicher geworden waren. Im Licht nahmen sie bald darauf wieder eine sattgrüne Färbung an. Wieweit diese Pigmentschwankungen mit dem Licht-Dunkel-Wechsel allein oder auch mit den übrigen Anzuchtbedingungen zusammenhängen, soll in einer speziellen Untersuchung geklärt werden. Gelegentlich war aber die Ausbleichung irreversibel, und nach einigen mattgrünen und gestreiften Blättern wurden nur noch gelblichweiße gebildet, die ohne Chlorophyll waren. Die neuen Blätter waren zwar um ein Drittel kleiner als die normalen, aber doch reine Landblätter, obwohl während ihrer Bildung jede Assimilation in der Knospe unmöglich war. Entscheidend sind also doch die Assimilate, welche von den ausgewachsenen Blättern geliefert werden.

Die *Lichtintensität* wirkt sich folgendermaßen auf die Blattdifferenzierung aus: Die Pflanzen waren bei 18° C und unter guter Belichtung als Landform herangezogen worden. Bei Herabsetzung der Lichtstärke, aber Beibehaltung der anderen Kulturbedingungen (Temperatur, Feuchtigkeit), bildeten sie Blätter, deren Zipfel deutlich schmäler, fast zylindrisch waren, anatomisch aber immer noch zur Landform gehörten. Man konnte dabei das Licht kontinuierlich bis zur völligen Dunkelheit abnehmen lassen, man erreichte damit nur zunehmendes Etiolement mit starker Spreitenreduktion und baldigen Wachstumsstillstand. Darin unterscheiden sich die Wasserranunkeln prinzipiell also nicht von den anderen Landpflanzen; allerdings ist festzuhalten, daß auf diese Weise wenigstens eine *Annäherung* an die Wasserblattform zu erzielen ist. Andererseits läßt sich bei Temperaturen von 15—20° C und guter Durchlüftung des Aquariums die *Wasserform* auch bei guter Lichtstärke ziehen, ohne daß unter Wasser Landblattbildung eintritt. Man kann dabei die Bedingungen so wählen, daß die Wasserform einen höheren Lichtgenuß hat als die gleichzeitig kultivierte Landform.

Die Abhängigkeit der Blattdifferenzierung von der Assimilationsleistung *allein* (gemessen an der Lichtstärke) geht also nicht so weit, daß optimale Assimilation zur Landblattbildung führt und schwache

Assimilation Wasserblätter im Gefolge hat. Dabei ist die von GESSNER für *R. Baudotii* getroffene Feststellung wichtig, daß das Wasserblatt dem Landblatt an der Luft in seiner Assimilationsleistung gleichwertig ist.

Der Einfluß der Beleuchtungsstärke auf die Blattdifferenzierung wird aber sofort deutlich, wenn man *gleichzeitig* die Temperatur oder die Feuchtigkeit oder beide variiert. Die Zufuhr von (spezifischen?) Assimilaten zur Knospe reguliert nämlich einen charakteristischen labilen Zustand, dessen Wesen noch unklar ist, der aber dadurch gekennzeichnet ist, daß er nach Eingreifen weiterer Faktoren (z. B. Feuchtigkeit, s. unten) die endgültige Differenzierung bestimmt. In dieser Labilität liegt der eigentliche Unterschied zu den nicht-heterophyllen Pflanzen: Begrenzung des Nachschubs von Assimilaten führt bei den übrigen Landpflanzen zu einer Verlangsamung der Blattbildung oder bei gleichzeitiger Entwicklungsanregung zu verkleinerten und schließlich verkümmerten Organen; Blattdifferenzierung und -wachstum sind eng gekoppelt. Bei den Wasserranunkeln besitzt dieser zweite Prozeß von einem bestimmten Punkte ab eine weitgehende Selbständigkeit.

b) Abhängigkeit der Blattdifferenzierung von der Tageslänge. Bei der Wirkung des Lichtes auf die Pflanze muß auch die *Tageslänge* berücksichtigt werden (z. B. BÜNNING 1946, HARDER 1946, MELCHERS und LANG 1948). Sie übt auf die Blattdifferenzierung der Wasserranunkeln einen bemerkenswerten Einfluß aus. Wenn auch gerade diese Seite der Untersuchungen noch in den Anfängen steckt, so liegen doch schon einige Grundbeobachtungen vor. *R. aquatilis* (zumindest der daraufhin untersuchte Stamm aus Raddack) ist in bezug auf seine Blütenbildung eine Langtagpflanze; die kritische Tageslänge liegt etwa bei 14 Std. Der labile Zustand in der Knospe, der den Übergang der Landform in die Wasserform reguliert, ist in gewissem Umfang tageslängenabhängig — insofern, als im Langtag die Landform unter Bedingungen beständig ist, unter denen im Kurztag ohne weiteres die Wasserform auftritt (z. B. Benetzung der Knospe). Auch im Langtag bildet sich natürlich die Wasserform, aber für den gleichen Effekt benötigt man im Langtag eine kräftigere Beeinflussung (Benetzung der Knospe *und* Herabsetzung der Lichtstärke). GESSNERs Bemerkung, daß der Winter für Entstehung der Landblätter besonders ungünstig sei, stützt diese Befunde.

Mit diesen Langtageffekten hängt engstens die alte Beobachtung zusammen, daß die Wasserform von *R. aquatilis* zur Blütezeit Laubblätter bilden kann (ROSSMANN 1854, ASKENASY 1870, KARSTEN 1888). ASKENASY sucht aus seinen Erfahrungen folgende Gesetzmäßigkeit für ihre Bildung abzuleiten (S. 218): „Ein typisches Gegenblatt[1] bildet sich, wenn das einer Blüthe opponirte Blatt in einer bestimmten Periode seiner Entwicklung aus dem Wasser an die Luft emporgehoben wird."

[1] Siehe Fußnote auf S. 515.

An Wassersprossen bildeten sich in meinen Versuchen aber die Laubblätter ausnahmslos aus der untergetauchten Knospe. Dabei handelt es sich nicht, wie auch GOEBEL (1891, S. 317) hervorhebt, um eine hochblattähnliche Umprägung der ursprünglichen Blattgestalt, wie man sie bei anderen Pflanzen im Bereich der Blüte häufig beobachtet. Vielmehr wird hier zur Blütezeit die Ausbildung *der* Blattform ermöglicht, die als die *eigentlich ursprüngliche* anzusehen ist, da die heterophyllen Vertreter der Gattung *Batrachium* von Formen wie *R. hederaceus* und

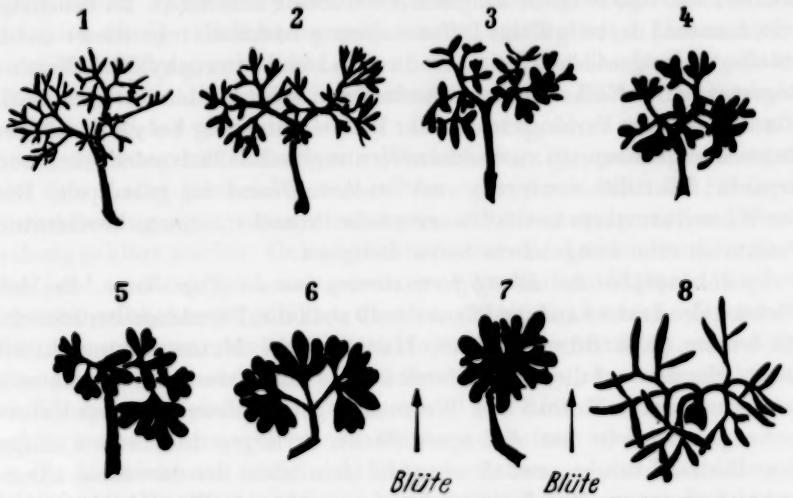


Abb. 2. Blattfolge einer Landpflanze von *Ranunculus aquatilis*, die im Dauerlicht bei erhöhter Temperatur aus der Wasserform gezogen wurde. Natürliche Größe.

R. Lenormandii abzuleiten sind. Da ihre Bildung bei der Wasserform *streng* an das Auftreten der Blüten gebunden ist, muß man annehmen, daß die Bereitschaft, die höher differenzierte Blattform zu bilden, durch die gleichen Prozesse, welche die Blütenbildung auslösen, begünstigt wird.

Hält man Wassersprosse die letzten Wochen vor Blühbeginn unter schlechten Beleuchtungsverhältnissen, dann tritt Blütenbildung *ohne* Gegenblätter vom Laubblattcharakter ein, gelegentlich werden noch Übergangsblätter gebildet, meist sind die Gegenblätter reine Wasserblätter. Die physiologischen Verhältnisse, welche durch die Blühhormone in der Knospe geschaffen werden, sind also nur *eine* mögliche Voraussetzung zur Differenzierungssteigerung der Blätter.

Die Landform bildet selten Laubblätter. ASKENASY erhielt sie nur, wenn er Wasserpflanzen kurz vor dem Blühen aufs Land brachte. In eigenen Versuchen gelang es aber regelmäßig, an Landpflanzen die Blattform dem typischen Laubblatt dadurch zu nähern, daß Wasser-

pflanzen (im Dezember und Januar vom Standort geholt) im Dauerlicht in die Landform übergeführt und während einer Dauer von 5 Wochen bis zum Blühen kultiviert wurden. Die Kulturgefäße standen unter zwei 200-W-Lampen; der Abstand vom unteren Lampenrand bis zur Erdoberfläche betrug 20 cm, und der Erdboden hatte während der ganzen Versuchszeit eine Temperatur von etwa 28° C. Interessant war, daß nicht, wie man es bei der Wasserform gewohnt ist, mit Blühbeginn schlagartig die Laubblattbildung eintrat, sondern daß stufenweise von Blatt zu Blatt, lange vor Blühbeginn, die allmähliche Umbildung unter Verbreiterung der Spreite und Rückgang der Zipfelverzweigung zu verfolgen war (Abb. 2). Ganz wurde die typische Nierenform nicht erreicht, aber auch die Wasserform bildet häufig noch unterteilte Laubblätter. Über die Ursache des Rückschlages zum normalen Landblatt nach der zweiten Blüte läßt sich noch nichts aussagen. Ebenso bleibt es unklar, warum gelegentlich bei der Wasserform während der Blütezeit das Laubblatt zum Wasserblatt zurückschlägt.

Neben dem Dauerlicht ist vor allem die hohe Strahlungswärme für die Weiterbildung des Landblattes zum Laubblatt, oder nach GOEBEL für die Überführung der Jugend- in die Folgeform, verantwortlich zu machen, wie man aus den nun zu besprechenden Versuchen über die Temperaturwirkung folgern muß.

2. Die Abhängigkeit der Differenzierungshöhe von der Intensität des Knospenstoffwechsels.

a) Der Einfluß der Temperaturerhöhung. Die Temperaturwirkung auf die Differenzierungshöhe war ganz von der Vorbehandlung der Sprosse abhängig. Wurde die Wasserform unter guten Wachstumsbedingungen bei 15° C kultiviert und anschließend in eine Temperatur von 28—30° C gebracht, dann bildeten sich im Licht *unter Wasser* Übergangsblätter und oft sogar echte Landblätter. Der Temperatureinfluß war jedoch nicht konstant, sondern nach dem „Differenzierungshub", der bis drei neu gebildete Blätter umfaßte, sank auch bei weiterhin erhöhter Temperatur die Differenzierung auf die reine Wasserform ab. Verdunkelte man aber gut ernährte Wassersprosse bei etwa 30° C vollständig und sorgte für reichliche Sauerstoffzufuhr, dann etiolierten sie mit Blättchen, die zwar eine reduzierte Spreite besaßen, jedoch zahlreiche Spaltöffnungen trugen. Dieser Effekt blieb aus oder war ganz unbedeutend, wenn die Pflanzen vorher schlecht assimilieren konnten. Bei 15° C etiolierte die Wasserform nur mit reduzierten Blattzipfeln vom Wasserblattcharakter auf übermäßig verlängerten Blattstielen und ohne jede Spaltöffnung. Es fehlten auch die von ASKENASY beschriebenen 1—3 Spaltöffnungen vom Hydathodencharakter, die gewöhnlich an der Blattzipfelspitze der Wasserblätter sitzen.

Daß auch die Landform auf Temperaturerhöhung mit einer Blattumbildung antwortet, wurde bereits oben dargelegt. Allerdings war zur Erreichung des Laubblattstadiums gleichzeitig eine längere Kultur im Dauerlicht nötig. In kurzfristigen Versuchen wurde aber ebenfalls beobachtet, daß gut ernährte Landpflanzen bei plötzlicher Temperatursteigerung auf etwa 30° C Blätter hervorbrachten, deren Blattzipfel deutlich *verbreitert* waren.

Demnach ist bei den Wasserranunkeln die Spreitenentwicklung der Landblätter, die ihre höchste Ausbildung im Laubblatt findet, von einer hohen Stoffwechselintensität abhängig.

Der Einfluß der Temperatur machte sich aber auch bemerkbar, wenn man gut ernährte Landpflanzen unter Wasser in die Wasserform überführte. Während gewöhnlich bereits das nächste auswachsende Blatt ein Übergangsblatt und das darauffolgende ein echtes Wasserblatt ist, wurden bei erhöhter Temperatur unter Wasser erst nach weiteren zwei Landblättern Wasserblätter gebildet.

Wurden dagegen Landpflanzen unter schlechten Assimilationsbedingungen herangezogen, dann wirkte eine plötzliche Temperaturerhöhung dahin, daß jetzt an der Luft Wasserblätter gebildet wurden. Die Erwärmung wirkte aber nicht direkt auslösend, sondern erhöhte 1. die Labilität der Knospe (wahrscheinlich durch allzu raschen Verbrauch von Stoffen, die für die Differenzierung wichtig sind) und regte 2. das Wurzelwachstum und im Gefolge davon die Guttation an. Dadurch blieb häufig noch bis in die Mittagsstunden das Knospeninnere benetzt. Was dies für die Blattgestaltung bedeutet, soll weiter unten behandelt werden. *Je nach den Bedingungen der Vorkultur konnten also die Ergebnisse gerade entgegengesetzt ausfallen.*

Daß durch die erhöhte Temperatur die Assimilation in den Blättern so entscheidend gefördert werden kann, ist unwahrscheinlich. Auch bei völliger Dunkelheit trat ja eine Differenzierungssteigerung ein. Das Temperaturoptimum der Assimilation ist zwar nicht bestimmt worden, die Frage des Angriffsortes der Temperatur wurde aber so gelöst, daß möglichst große, kräftige Pflanzen, die frisch vom Standort geholt waren, ihrer sämtlichen Blattzipfel beraubt wurden — bis auf die, welche gerade aus der Knospe herausschauten. Auch solche verstümmelten Pflanzen bildeten unter Wasser bei etwa 30° C reichlich Spaltöffnungen, besonders kräftige Sprosse sogar deutliche Übergangsblätter mit kurzen Palisaden und vergrößertem Interzellularsystem in den schon leicht dorsiventralen Blattzipfeln.

Die Temperaturerhöhung beschleunigt also Stoffwechselprozesse in der Knospe, die für die Differenzierung wichtig sind und deren Intensität auch von der Assimilationsleistung der Blätter mitbestimmt wird.

b) Stomatabildung durch Heteroauxin. In die gleiche Richtung weisen zahlreiche Versuche, in denen diese Stoffwechselanregung nicht durch Temperatursteigerung, sondern durch abgestufte Heteroauxinkonzentration bei gleicher Temperatur angestrebt wurde. Wirksam waren Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-8}. Schwächere Konzentrationen zeigten keine eindeutigen Effekte, stärkere führten zu Wachstumshemmungen. Die Wirkung war wieder davon abhängig, ob die Pflanzen vorher unter guten Ernährungsbedingungen gestanden hatten. Teils wurde der Wuchsstoff als Paste an der Knospe, teils direkt im Kulturwasser gelöst geboten. Bei Temperaturen von 18—20° C, bei denen die gleichzeitig angesetzten unbehandelten Kontrollen sich nicht veränderten, rief Heteroauxin die Bildung von zahlreichen Spaltöffnungen an den Blättern hervor, die in ihrem übrigen anatomischen Bau noch ganz Wasserblätter geblieben waren. Dieser Effekt war aber nur von kurzer Dauer, bereits das nächste oder übernächste Blatt bildete trotz täglicher Erneuerung der Lösung nur noch wenige Spaltöffnungen oder Spaltöffnungsmutterzellen; vorher schlecht ernährte Wassersprosse zeigten geringe oder gar keine Heteroauxinwirkung. Deshalb berichtet wohl auch Gessner, der ähnliche Versuche anstellte, von keiner Stomatabildung. Im übrigen traten bei Konzentrationen von 10^{-6} bis 10^{-5} Wuchsanomalien der Blattzipfel, Riesenzellen und verdickte Blattstiele auf, wie ich sie auch nach Colchicingabe beobachtete.

3. Die Wirkung der Hydratur auf die Blattgestaltung.

a) Hydratur und Streckungswachstum. Welche Rolle spielt nun das Wasser selbst bei der Bildung der Wasserform? Hemmung der Assimilation ist nach dem oben Dargelegten nicht die eigentlich entscheidende Wirkung. Zu dieser Auffassung kommt man nicht nur auf Grund der angeführten Versuche oder direkter Assimilationsmessungen (Gessner), sondern allein schon, wenn man die viel üppigere Stoffproduktion der Wasserform gegenüber der Landform betrachtet. Auch eine Hemmung des Sauerstoffzutritts zur Knospe, an die Goebel (1908, S. 45) bei seinen Versuchen mit *Myriophyllum proserpinacoides* dachte, scheidet aus. Denn wenn man die Knospe untertaucht bzw. mit Vaseline verschmiert, wird trotzdem bei *guter* Assimilation der Gesamtpflanze die Landform in den neuen Blättern beibehalten. Die Hemmung des Gasstoffwechsels kann in diesen Fällen nicht von Einfluß auf die Differenzierung sein. Nach Ruhland und Ramshorn (1938) scheinen ja ohnehin in den embryonalen Geweben der Knospe Gärungsvorgänge zu dominieren.

Der direkte Einfluß des Wassers auf die Hydratur der Pflanze, speziell des Knospengewebes, sollte schon nach MacCallum (1902) für die Erscheinung der Heterophyllie verantwortlich sein, doch Goebel

erkannte diese Erklärung nicht an. Nachdem aber auch GOEBELs Interpretation des Problems nur begrenzte Gültigkeit hat, mußte der Frage der Hydraturwirkung erneut besondere Beachtung geschenkt werden. Ihre große Rolle beim Pflanzenwachstum ist eine bekannte Tatsache (WALTER 1924, 1931). Wenn auch ganz allgemein alle fermentativen Abläufe in der Zelle vom Grad der Wassersättigung stark abhängig sind, so springt doch der Einfluß auf die Zellstreckung am meisten in die Augen. Es ist vielleicht kein Zufall, daß gerade die Blätter der Wasserranunkeln empfindlicher als die anderer höherer Pflanzen Änderungen des Wasserzustandes mit Wachstumsreaktionen beantworten. Diese Erfahrung macht man, wenn man vergleichsweise Landpflanzen von *R. aquatilis* und *R. repens* oder *R. acer* unter Wasser setzt oder sie gar in völliger Dunkelheit unter Wasser etiolieren läßt. Die Empfindlichkeit bezieht sich nicht nur auf die jüngsten Stadien. Auch junge Landblätter, die sich im allerletzten Stadium der Streckungsphase befinden, also praktisch gerade ihre definitive Größe erreicht haben, erfahren unter Wasser noch einen zusätzlichen Streckungsimpuls und verlängern ihre Blattstiele und -zipfel über das normale Maß hinaus. Ältere Blätter reagieren nicht mehr mit Längenänderungen, dagegen wird der Streckungseffekt um so stärker, je jünger die untergetauchten Organe sind.

Sicher hängt die Ausbildung der Wasserform damit zusammen, daß die Zellstreckung bereits auf einem Entwicklungsstadium einsetzt, auf dem beim Landblatt der Differenzierungsprozeß noch nicht abgeschlossen ist (vgl. schon ASKENASY). Die auffallend starken Zellstreckungsreaktionen gerade der jüngsten Knospenorgane bei Wassersättigung führten zu dem Gedanken, daß die unmittelbare Wirkung der Hydratur bei der Wasserblattbildung darauf beruhen könnte, daß ihre Erhöhung die Differenzierung durch eine *vorzeitige* Organstreckung unterbricht. Wenn das Problem so einfach läge, müßte man durch eine Wachstumshemmung die Differenzierungsprozesse auch in der Knospe der Wasserform bis zur vollen Landblattstufe weiterlaufen lassen können.

Das Nächstliegende war, diese Wachstumshemmung durch eine Erniedrigung der Hydratur hervorzurufen; damit hatte man am ehesten einen Vergleich zu dem Knospenzustand an der Luft. Wenn man aber den Einfluß abgestufter Konzentrationen ausbalancierter Salz- oder Zuckerlösungen studiert, muß man erkennen, daß bei den Wasserranunkeln der Hydratur nicht die ausschließliche Bedeutung zukommt, wie sie MACCALLUM sieht: es wurden nur Blätter der Wasserform gebildet. Deutlich war aber die Wirkung auf die *Länge* der neuen Blätter: je konzentrierter die Lösung, desto kürzer die Blätter. Damit konnten entsprechende Versuche von GESSNER bestätigt werden, doch trugen unter meinen Versuchsbedingungen die Blattzipfel in den Rohrzucker-

lösungen eine mehr oder weniger große Anzahl von Spaltöffnungen oder Spaltöffnungsmutterzellen, während das normale Wasserblatt nur etwa 1—3 Spaltöffnungen ganz an der Spitze der Zipfel zwischen den Blattzähnen besitzt. Zuckerfütterung fördert also die Differenzierung; man muß dabei die Bildung der Stomata als ersten Schritt zur höheren Blattform betrachten. Echte Landblattbildung kommt auf diese Weise aber nicht zustande.

Die Auswertung solcher Versuche, die durch Änderung des osmotischen Wertes und damit des Quellungsgrades des Plasmas die Blattbildung beeinflussen sollen, hat aber mit allem Vorbehalt zu erfolgen. Schon WALTER (1924, S. 379) wies in einem anderen Zusammenhang auf die Fehlerquellen solcher Versuche hin. Die Elektrolyte wirken ja nicht nur vermöge ihrer Konzentration von außen osmotisch, sondern üben unter anderem nach Maßgabe ihrer Hydratationskraft einen direkten Einfluß auf die Quellbarkeit der Plasmakolloide aus, sobald sie eingedrungen sind. Rohrzucker gilt zwar als indifferent, greift aber außer seiner osmotischen Wirkung in den Stoffwechsel ein. In unserem Falle erstreckte sich zudem der Einfluß aller dieser Lösungen nicht nur auf die Knospe, sondern auch auf die ausgebildeten Blätter, wo sie sicher die Assimilation beeinträchtigen (WALTER 1928). Das gilt auch für Rohrzuckerlösungen, die durch Gleichgewichtsverschiebungen im Kohlenhydratstoffwechsel eine massige Stärkebildung veranlassen. Möglicherweise wird dadurch indirekt auch die Ableitung der Kohlenhydrate aus den Blättern gehemmt. Der labile Zustand im Knospengewebe kann also auch durch solche groben Versuche nicht aufgehoben werden. Auf keinen Fall darf aus dem negativen Ausfall dieser Versuche auf eine Bedeutungslosigkeit der Hydratur für die Blattentwicklung der Wasserranunkeln geschlossen werden. Ihr Einfluß kommt vielmehr in folgenden Versuchsanstellungen zum Ausdruck.

b) Hydratur und Differenzierungshöhe. Von 20 Landpflanzen, die im Januar 1949 (Kurztag!) im Gewächshaus kultiviert wurden, blieben 10 als Kontrollen unbeeinflußt, die anderen bekamen je einen Tropfen Leitungswasser in die Knospe, der während mehrerer Tage öfters erneuert wurde. Die Pflanzen mit dem Wassertropfen bildeten ausnahmslos Wasserblätter, die wegen ihres niedrigen osmotischen Wertes und des Fehlens einer kräftigen Kutikula bald eintrockneten; die Kontrollen bildeten weiter Landblätter. Diese Befunde wurden mehrfach reproduziert.

Die gleichen Versuche gelangen im sommerlichen Langtag im Gewächshaus, wenn beispielsweise während einer längeren Schönwetterperiode ein Teil der Pflanzen, die durch starke Beschattung etwa eine Woche in ihrer Assimilation behindert waren, mit einem mehrfach erneuerten Wassertropfen in der Knospe versehen wurde. Oft genügte schon statt der Beschattung eine länger dauernde Schlechtwetterperiode.

Wieder behielten die Kontrollen ohne Benetzung der Knospe die Landform bei.

In diesem Zusammenhang werden auch die oben angeführten Versuche verständlich, in denen Temperaturerhöhung bei schlechter Assimilation Wasserblattbildung im Gefolge hatte. Dort wurde eine Förderung des Wurzelwachstums (gut erkennbar bei Wasserkulturen) und damit verbunden eine Guttationsanregung gefunden, die wiederum eine starke, lang andauernde Benetzung der Knospen zur Folge hatte. Daß tatsächlich die Wasserblattbildung auch in diesen Fällen durch die Hydraturerhöhung bedingt war, folgt daraus, daß unter obigen Bedingungen weiterhin Landblattbildung möglich war, wenn man die Knospen ständig und sorgfältig trocken hielt. Hier ergeben sich Parallelen zu GOEBELs und WOLTERECKs Versuchen, die durch Wurzelerwärmung die Landform (von *Proserpinaca palustris*) zur Bildung von Wasserblättern veranlaßten. Nur muß ich in meinen Versuchen weniger Wert auf die dadurch vermehrte Versorgung der Knospe mit Nährsalzen als vielmehr mit Wasser legen.

4. Assimilation, Temperatur und Hydratur in ihrer gegenseitigen Abhängigkeit.

In der komplizierten Reaktionskette, durch welche die Blattgestaltung ausgelöst wird, konnten erst wenige Etappen festgelegt werden.

Die erste Grundvoraussetzung jedes Differenzierungsgeschehens ist die Assimilation in den Blättern. Es braucht sich dabei aber nicht allein um Lieferung von Bau- und Betriebsmaterial an die Knospen zu handeln. Die Befunde, daß Langtag und Blühbereitschaft die höhere Blattform begünstigen, deuten darauf hin, daß in den Blättern auch spezifische Stoffe gebildet werden, die der Höherdifferenzierung förderlich sind.

Die für die Differenzierung wichtigen Prozesse in der Knospe sind nicht nur dadurch der experimentellen Beeinflussung zugänglich, daß man die Assimilationsleistung der Blätter variiert und dadurch die Zufuhr von Nähr- und Wirkstoffen reguliert, sondern diese Prozesse konnten durch Temperaturerhöhung bzw. Heteroauxin intensiviert werden. Damit ergab sich die erste Abhängigkeit zweier Faktoren: Die Stoffwechselanregung führte nur dann in nachhaltiger Weise zur Höherdifferenzierung, d. h. zur Landblattbildung unter Wasser, wenn die *vorangegangene* Assimilation hoch genug war.

Der 3. Faktor, der näher untersucht wurde, die Hydratur des Knospengewebes, war seinerseits deutlich in seiner Wirkung auf die Blattgestaltung vom Knospenstoffwechsel abhängig. Bei hoher Intensität dieser Prozesse kann auch Wassersättigung der Blattanlagen eine Umbildung der Wasser- zur Landform nicht aufhalten. An der Landform wiederum braucht sich bei Herabsetzung dieser Intensität morphologisch

nichts zu ändern, wenn die Knospen gut trocken gehalten werden; Hydraturerhöhung führt aber sofort zur Bildung von Wasserblättern, hat also für die weitere Blattgestaltung *auslösenden* Charakter, während die vorangeganenen Prozesse darüber entscheiden, ob es zu dieser Labilität im Differenzierungsablauf kommt, an der das Wasser erst seine direkte Wirkung entfalten kann, oder ob das Differenzierungsgeschehen stabil bleibt und wie bei nicht-heterophyllen Pflanzen, trotz Hydraturerhöhung, zu Ende geführt wird. — Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich diese Labilität auf spezifische Plasma*strukturen* bezieht.

5. Anhang.

Zum Schluß soll noch ein Befund erwähnt werden, der die Frage der physiologischen Leistung der Blattgewebe im Gefolge der anatomischen Umdifferenzierung anschneidet. Noch in 5%iger Zuckerlösung wuchsen die Wasserpflanzen nach anfänglicher Hemmung gut. In solchen Kulturen trat in den älteren Wasserblättern kräftige Anthocyanbildung auf; ebenso bildeten die Landblätter bei Zuckerfütterung den Farbstoff (Abb. 1.) Das Bemerkenswerte ist aber nicht die Anthocyanbildung an sich, die sich bei den meisten darauf untersuchten Pflanzen erreichen läßt, sondern der Ort der Bildung. Bekanntlich haben die Landblätter der Wasserranunkeln ein gut ausgebildetes Palisadengewebe und eine typische Epidermis mit reduzierten Plastiden. Die Wasserform dagegen hat im Blattparenchym nur eine schwache Chloroplastenausbildung und verlegt die Hauptassimilationstätigkeit in die Epidermis, die mit großen Chloroplasten vollgestopft ist. Epidermis und subepidermale Zellschicht machen damit einen Funktionswechsel durch. Wird nun Anthocyan gebildet, dann tritt es sowohl im Landblatt als auch im Wasserblatt ausschließlich in der subepidermalen Zellschicht als geschlossener Ring auf: im Landblatt also *in* der eigentlichen Assimilationsschicht, im Wasserblatt dagegen *unter* dem Assimilationsgewebe. Trotz stärkster anatomischer Veränderungen ist die physiologische Umdifferenzierung der in Frage kommenden Zellschichten nur eine teilweise. Das mag auch noch für weitere Stoffwechselprozesse zutreffen.

Zusammenfassung.

1. In der Knospe der Wasserranunkeln müssen gewisse (spezifische ?) Stoffwechselprozesse mit einer Mindestintensität ablaufen, damit die höher differenzierte Blattform ausgebildet wird.

2. Die Intensität dieser Prozesse wird begrenzt durch die *Assimilationsleistung* der Blätter und kann durch Erhöhung der *Temperatur* oder durch Heteroauxingaben gesteigert werden.

3. Die Landform kann im Dauerlicht, bei Erwärmung der Knospen durch Bestrahlung, Laubblätter (Folgeform) bilden. Kurzfristige Temperaturerhöhung läßt Landblätter mit verbreiterten Blattzipfeln entstehen.

4. Die *Wassersättigung* des Knospengewebes kann bei hoher Intensität des Knospenstoffwechsels die Landblattbildung nicht verhindern. Auch unter Wasser können bei guter Assimilation durch Temperaturerhöhung oder Heteroauxingaben Differenzierungssteigerungen erzielt werden.

5. Herabsetzung der Assimilation führt dagegen zu einem *labilen Zustand* in den Blattanlagen der Knospe, in dem nur dann noch Landblätter gebildet werden, wenn die Knospengewebe *nicht wassergesättigt* sind.

6. *Langtag* hält die Landform länger stabil als *Kurztag*. Auch an der Wasserform begünstigen die Prozesse in der Knospe, welche die Blütenbildung auslösen, eine Höherdifferenzierung der Blätter. Die Laubblattbildung zur Blütezeit kann aber experimentell unterdrückt werden.

7. Trotz Verlagerung der Hauptassimilationstätigkeit von der Palisadenschicht der Landblätter auf die Epidermis bei der Wasserform bleibt die physiologische Umdifferenzierung nur eine teilweise, wie am Beispiel der Anthocyanbildung gezeigt wird.

Literatur.

ASKENASY, E.: Über den Einfluß des Wachstumsmediums auf die Gestalt der Pflanzen. Bot. Ztg **28**, 193, 209, 225 (1870). — BÜNNING, E.: Die entwicklungsphysiologische Bedeutung der endogenen Tagesrhythmik bei Pflanzen. Naturwiss. **33**, 271 (1946). — COMBES, R.: Production expérimentale chez une plante immergée des charactères de structure propres aux organes aériens. C. r. Acad. Sci. Paris **203**, 680 (1936). — GERTRUDE, M.: Action du milieu extérieur sur le métabolisme végétal. VIII. Métabolisme et morphogénèse en milieu aquatique. Rev. gén. Bot. **49**, 161, 243, 328, 375, 449 (1937). — GESSNER, F.: Beiträge zur Biologie amphibischer Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **58**, 2 (1940). — GLÜCK, H.: Biologische und morphologische Untersuchungen über Wasser- und Sumpfgewächse. IV. Jena 1924. — GOEBEL, K.: Pflanzenbiologische Schilderungen. II. Marburg 1891. — Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Leipzig u. Berlin 1908. — HARDER, R.: Über photoperiodisch bedingte Organ- und Gestaltbildung bei den Pflanzen. Naturwiss. **33**, 41 (1946). — KARSTEN, G.: Über die Entwicklung der Schwimmblätter bei einigen Wasserpflanzen. Bot. Ztg **46**, 565, 581 (1888). — KLEBS, G.: Willkürliche Entwicklungsänderungen bei Pflanzen. Jena 1903. — Über Probleme der Entwicklung. Biol. Zbl. **24**, 257, 289, 545, 601 (1904). — MACCALLUM, W. B.: On the nature of the stimulus causing the charge of form and structure in *Proserpinaca palustris*. Bot. Gaz. **34**, 93 (1902). — MELCHERS, G., u. A. LANG: Die Physiologie der Blütenbildung. Biol. Zbl. **67**, 105 (1948). — MOLLIARD, M.: Sur l'appareil stomatique du Radis cultivé au sein de milieux liquides. C. r. Soc. Biol. Paris **114**, 1143 (1933). — ROSSMANN, J.: Beiträge zur Kenntnis der Wasserhahnenfüße. Gießen 1854. — RUHLAND, W., u. K. RAMSHORN: Aërobe Gärung in aktiven pflanzlichen Meristemen. Planta (Berl.) **28**, 471 (1938). — WALTER, H.: Plasmaquellung und Wachstum. Z. Bot. **16**, 353 (1924). — Die Bedeutung des Wassersättigungszustandes für die CO_2-Assimilation der Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, 530 (1928). — Plasmaquellung und Assimilation. Protoplasma (Berl.) **6**, 113 (1929). — Die Hydratur der Pflanze. Jena 1931. — WOLTERECK, I.: Experimentelle Untersuchungen über die Blattbildung amphibischer Pflanzen. Flora (Jena) **123**, 30 (1928).

Dr. L. BAUER, München 38, Botanisches Institut der Universität.

Planta, Bd. 40, S. 529—549 (1952).

Aus dem Staatsinstitut für Allgemeine Botanik Hamburg.

WEITERE UNTERSUCHUNGEN ÜBER PERIODISCHE GUTTATION ETIOLIERTER HAFERKEIMLINGE.

Von

HORST ENGEL und INGEBORG FRIEDERICHSEN.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Februar 1952.)

Einleitung.

Bringt man etiolierte und guttierende Haferkeimlinge aus dem Dunkel in das Licht, reagieren sie mit einer kräftigen Guttationswelle (ENGEL und FRIEDERICHSEN 1951). Die von uns weitergeführten Untersuchungen zeigten, daß auch der Wechsel zwischen verschiedenen Lichtintensitäten Guttationswellen auszulösen vermag. Man kann daher im „Dunkeln" den Verlauf der Guttation genau so verfolgen wie im Licht, indem man an Stelle von Dunkelheit eine Lichtintensität wählt, die gerade ausreicht, um die Tropfen an den Pflanzen zu erkennen und mit den Meßkapillaren aufzunehmen. Hierbei spielt es keine Rolle, ob man als Ersatz für Dunkelheit schwaches weißes, rotes oder grünes Licht benutzt. Damit findet auch die Feststellung HEIMANNS (1950) ihre Aufklärung, daß schwaches grünes Licht die Guttation von *Kalanchoe Bloßfeldiana* nicht beeinflußt. Wir hatten dagegen gefunden, daß es beim Hafer ebenso die Lichtguttationswelle auslöst wie weißes, rotes oder andersfarbiges Licht. Heute wissen wir, daß es im wiederholten Licht-Dunkelwechsel als schwaches Licht der Dunkelheit gleichzusetzen ist.

Die folgenden Ausführungen werden zeigen, daß zwischen der durch den ersten Lichtgenuß ausgelösten Lichtguttationswelle und den späteren, im regelmäßigen Licht-Dunkelwechsel auftretenden Guttationswellen ein unmittelbarer Zusammenhang besteht, wie wir bereits 1951 vermuteten. Damals hatte sich ferner ergeben, daß die Guttationsrhythmik des Hafers wahrscheinlich den gleichen Gesetzmäßigkeiten folgt wie die von *Kalanchoe* (HEIMANN 1950, HARDER 1949). Es ist jetzt nicht mehr daran zu zweifeln, daß zwischen den beiden Pflanzen keine wesentlichen Unterschiede bestehen. Auch die Guttation des Hafers verläuft im 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel tagesperiodisch mit den Maxima in den Dunkelperioden und den Minima in den Lichtperioden. Im 6:6stündigen Beleuchtungswechsel steigt die Guttationsintensität im Dunkeln regelmäßig an wie bei *Kalanchoe*, im Licht sinkt

sie regelmäßig ab. Darüber hinaus ließ sich zeigen, daß die Guttationsperioden des Hafers bis auf 2 Std und wahrscheinlich noch weniger verkürzt werden können, wenn er einem entsprechend kurzen Licht-Dunkelwechsel ausgesetzt wird.

Experimenteller Teil.

In methodischer Hinsicht gingen wir wie bei den früheren Versuchen vor, so daß sich nähere Angaben erübrigen. Hinweise auf notwendig gewordene Veränderungen oder Ergänzungen finden sich bei der Beschreibung der einzelnen Versuche. Unter „Dunkelheit" ist in allen Versuchen nicht absolute Dunkelheit zu verstehen, sondern das schwache Licht der Dunkelperioden. Die Dunkelstunden sind zur besseren Kennzeichnung unterstrichen worden.

Verlauf der Guttation im 6:6stündigen Licht-Dunkelwechsel.

Versuch 1. Das Alter der Keimlinge betrug zu Versuchsbeginn am 5. 4. 51 morgens 8 Uhr 4 Tage 23 Std. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden die Pflanzen in *absoluter* Dunkelheit herangezogen. Dann kamen sie zum ersten Mal in helles Licht. Eine 60-W-Glühbirne, deren Abstand von den Pflanzen etwa 35 cm betrug und über den Pflanzen angebracht war, diente als Lichtquelle. Zusätzlich wurde auch die Deckenbeleuchtung der Dunkelkammer eingeschaltet, gleichfalls eine 60-W-Glühbirne. Nach 6 Std wurden beide Lampen ausgeschaltet und durch eine 25-W-Glühbirne ersetzt, die mit einem dunklen Tuch umwickelt war, so daß in der Nähe der Pflanzen ein schwaches Dämmerlicht herrschte. Nach der ersten Dunkelperiode folgte der zweite 6stündige Lichtabschnitt. Nach 36 Std mußte der Versuch wegen starker Übermüdung des Experimentators abgebrochen werden.

Die Temperatur bewegte sich während der ganzen Zeit zwischen 20—21° C. Die Keimlinge ergrünten naturgemäß und vergrößerten sich beträchtlich. Am Ende des Versuchs wurden folgende durchschnittliche Längen gemessen: Mesokotyl 7,8, Koleoptile 39,7, Primärblatt 5,1, also Gesamtlänge 52,6 mm. Das Mesokotyl wurde hier wie in allen weiteren Versuchen nur soweit gemessen, als es aus dem Boden ragte. Der Durchbruch des Primärblattes erfolgte bei den einzelnen Pflanzen zu verschiedenen Zeitpunkten, in der Mehrzahl der Fälle in der letzten Licht- und Dunkelperiode. Einzelne Primärblätter begannen wenige Stunden nach ihrem Erscheinen zu guttieren. Ihre Guttationstropfen wurden mit denen der Koleoptile vereinigt. Es wurde hier, wie auch in allen folgenden Versuchen, mit 12 Pflanzen gearbeitet. Aus Gründen der Übersichtlichkeit konnte in den Abbildungen der Guttationsverlauf von jeweils nur 6 Pflanzen gebracht werden.

Wie die Abb. 1 zeigt, antworten die Keimlinge auf den 6:6stündigen Licht-Dunkelwechsel mit einem entsprechenden 6:6stündigen Guttationsrhythmus. Die durch das erste Licht ausgelöste Lichtguttationswelle geht bereits während der ersten Dunkelperiode in Guttationswellen über, die sich ganz dem Beleuchtungswechsel anpassen. Es entstehen Kurven, die im Dunkeln ansteigen, im Licht abfallen, und mit den von HEIMANN bei *Kalanchoe* beobachteten Kurven größte Ähnlichkeit haben.

Aber Beleuchtungszyklus und Guttationsrhythmus decken sich nicht ganz, indem die Augenblicke des Umschwungs der Guttation mit den Zeitpunkten der Umschaltung des Lichtes nicht vollständig zusammenfallen. Die ersten hinken um etwa 1—2 Std nach. Die Maxima und Minima treten nicht gerade noch am Ende der Dunkel- und Lichtperioden auf, wie HEIMANN bei *Kalanchoe* festgestellt hat, sondern sind ein wenig in den Anfang der Licht- und Dunkelabschnitte verschoben. Um sicherzugehen, wiederholten wir den Versuch einige Monate später.

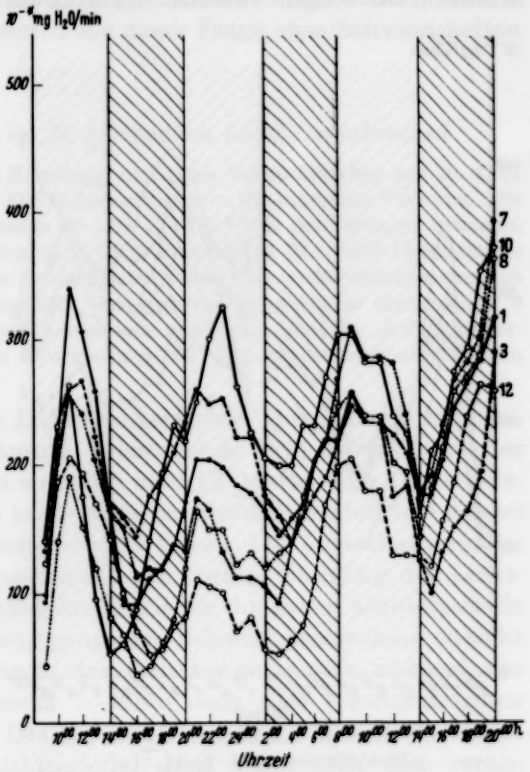


Abb. 1. Verlauf der Guttation im 6:6-Std-Licht-Dunkelwechsel 5.—6. 4. 51.

Versuch 2. Das Alter der Keimlinge betrug zu Versuchsbeginn am 24. 10. 51 morgens 9 Uhr 4 Tage 23 Std, und war somit das gleiche wie im ersten Versuch. Auch die Temperatur war mit 19 bis 20° C nicht wesentlich anders. Nur die Lichtquelle für starkes Licht bestand jetzt aus 2 Osram-Leuchtröhren von je 40 W, die in einem Abstand von etwa 35 cm waagerecht über den Pflanzen aufgehängt wurden, so daß das Licht senkrecht von oben auf die Pflanzen fiel. Die Ausmessung der Keimlinge am Ende des Versuchs ergab folgendes: Mesokotyl 3,0, Koleoptile 33,0, Primärblatt 5,5, also Gesamtlänge 41,5 mm. Die Pflanzen waren somit nicht ganz so groß wie die des ersten Versuchs. Nach Durchbruch des Primärblattes wurde dessen Guttation dieses Mal nicht mitgemessen.

Wie aus der Abb. 2 hervorgeht, ist der Verlauf der Guttation nicht ganz der gleiche wie im ersten Versuch. In der zweiten Lichtperiode z. B. steigt die Guttation weiter an, ohne daß ein Minimum ausgebildet ist. In der dritten Dunkelperiode liegt ein Maximum, das die Kurven des ersten Versuchs nicht zeigen.

Tatsächlich sind aber die Unterschiede nicht von größerer Bedeutung. In der zweiten Lichtperiode erfährt der Aufstieg etwa 1—2 Std nach dem vorangegangenen Beleuchtungswechsel bei den meisten Pflanzen

eine merkliche Abschwächung (s. Pfeil). Hier liegt ein Wendepunkt, nur zeigt er sich nicht als Maximum, sondern als Stufe. In der zweiten Dunkelperiode tritt etwa 1 Std nach dem vorangegangenen Beleuchtungswechsel eine merkliche Beschleunigung ein (s. 2. Pfeil). Hier haben wir wieder einen Wendepunkt vor uns, entsprechend dem Minimum im vorigen Versuch. Wenn beide Wendepunkte diesmal nur als Kurvenstufen in Erscheinung treten, so liegt das an der stark ansteigenden Guttationstendenz, die den lichtbedingten Rhythmus überlagert und ihre Ursache in dem raschen Wachstum der Keimlinge hat. Derartige Überlagerungen zeigten auch die Kurven einiger Pflanzen des vorigen Versuchs, die aber in der Abb. 1 nicht dargestellt wurden.

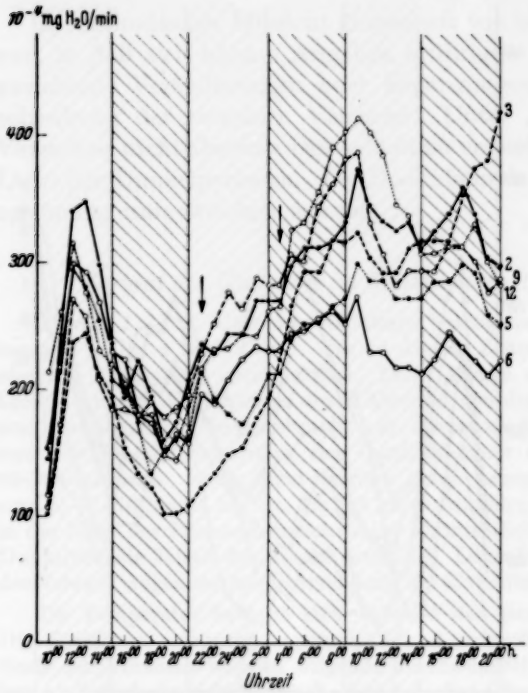


Abb. 2. Verlauf der Guttation im 6:6-Std-Licht-Dunkelwechsel 24.—25. 10. 51.

Das abweichende Verhalten der Guttation in der dritten Dunkelperiode konnten wir auf den Durchbruch des Primärblattes zurückführen. Schon wenige Stunden nach Erscheinen des ersten Blattes teilt sich der Guttationsstrom in der Pflanze in einen solchen, der an der Koleoptilspitze austritt, und einen, der seinen Weg zur Spitze des Primärblattes nimmt. Die Intensität des letzten steigert sich allmählich auf Kosten der des ersten. Von Beginn der Teilung des Guttationsstromes an ist die Tendenz der Koleoptilguttation sinkend, die des Primärblattes ansteigend. Da wir im ersten Versuch die Tropfen von Koleoptile und Primärblatt vereinigten, beim zweiten nur die der Koleoptile berücksichtigten, war nach dem oben Ausgeführten naturgemäß keine Übereinstimmung in den Ergebnissen während der kritischen Phase des Primärblattdurchbruchs zu erwarten.

Schon aus unseren bereits veröffentlichten Untersuchungen war zu schließen, daß auch der Hafer eine 12:12stündige Guttationsperiodi-

zität besitzt, die, falls die Dunkelperioden in der Nacht, die Lichtperioden am Tage liegen, dem natürlichen Tag-Nachtwechsel folgt. Damals aber wußten wir noch nicht, wie die Guttation im Dunkeln zu messen sei und konnten daher den endgültigen Beweis für das Vorhandensein eines Tag-Nachtryhthmus nicht erbringen. Als wir dann fanden, daß es lediglich eines Lichtintensitätswechsels bedarf, um die Periodizität auszulösen, konnten wir dieser Frage ohne Schwierigkeiten nähertreten.

Verlauf der Guttation im 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel.

Versuch 3. Das Alter der Keimlinge betrug zu Versuchsbeginn am 10. 4. 51 morgens 7 Uhr 4 Tage 21 Std. Die Lichtquellen waren die des ersten Versuchs. Die Temperatur bewegte sich zwischen 19—20° C. Am Ende des Versuchs betrugen die Längen: Mesokotyl 4,8, Koleoptile 31,2, Primärblatt 32,8, also Gesamtlänge 68,8 mm. Nach Erscheinen des Primärblattes wurde dessen Guttationswasser mit dem der Koleoptile zusammengefaßt. Die zweite Dunkelperiode dauerte nur 9 anstatt 12 Std. Von der dritten Lichtperiode wurde nur noch der Anfang untersucht, da der Versuch wegen Übermüdung des Experimentators abgebrochen werden mußte.

Der im 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel durch die Lichtguttationsreaktion gegebene Anstoß führt (s. Abb. 3) bereits von der zweiten Guttationswelle an zu einem etwa 12:12stündigen Guttationsrhythmus, dessen Maxima im Bereich der Dunkelperioden und dessen Minima im Bereich der Lichtperioden liegen. Die Guttationsperioden passen sich nach einem anscheinend nur kurzen Übergang den Licht-Dunkelperioden an. Während das Maximum der ersten Dunkelperiode 9—11 Std nach dem vorangegangenen Beleuchtungswechsel erreicht wird, tritt der Umschwung in der Guttationsintensität während der zweiten Dunkelperiode bereits 7—9 Std nach dem vorangegangenen Beleuchtungswechsel ein. Das Minimum zwischen beiden liegt etwa in der Mitte der zweiten Lichtperiode, somit 6 Std nach dem vorangegangenen Beleuchtungswechsel.

Damit ist erwiesen, daß die Guttation des Hafers ebenso tagesperiodisch verlaufen kann wie die von *Kalanchoe*, falls nur die Licht- und Dunkelperioden lang genug gewählt werden. Es tritt das ein, was HARDER (1949) über die diesbezüglichen Beobachtungen HEIMANNs ausführte: „Bei rhythmischer Beleuchtung verlaufen also im Licht Prozesse, die die Guttation herabsetzen, und im Dunkeln solche, die sie steigern, ihre Dauer geht aber nicht sehr wesentlich über 6 Std nach der letzten Beleuchtungsumschaltung hinaus, dann findet auch ohne Änderung der Beleuchtungsverhältnisse eine Umkehr in der Guttationsintensität statt." Wir werden im Schlußabschnitt noch hierauf zurückkommen.

Auch der 12:12-Std-Rhythmus wurde einige Monate später noch einmal untersucht. Immerhin waren jahreszeitlich bedingte Unterschiede möglich, auch wollten wir völlig sichergehen.

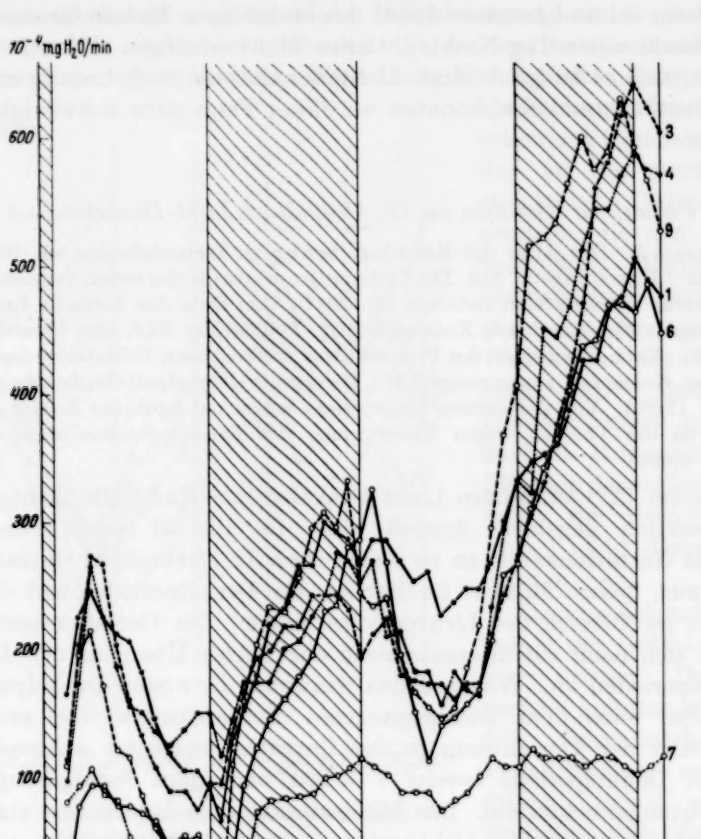


Abb. 3. Verlauf der Guttation im 12:12-Std-Licht-Dunkelwechsel 10.—12. 4. 51.

Versuch 4. Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie im Versuch 2. Zu Beginn am 1. 11. 51 morgens 9 Uhr waren die Keimlinge 4 Tage 22 Std alt. Die Temperatur bewegte sich zwischen 18—20° C. Am Ende des Versuchs wurden folgende Längen gemessen: Mesokotyl 1,6, Koleoptile 34,4, Primärblatt 14,8, also Gesamtlänge 50,8 mm. Leider mußte der Versuch bereits 1 Std nach Beginn der zweiten Dunkelperiode abgebrochen werden.

Es zeigte sich (s. Abb. 4), daß das Ergebnis ähnlich dem des Frühjahrsversuchs ist, nur treten die Maxima und Minima, von der

Lichtguttationswelle abgesehen, 2—3 Std früher auf. Das Einpendeln des Rhythmus in den 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel geht diesmal schneller als im vorangegangenen Versuch vor sich. In der ersten Dunkelperiode tritt der Umschwung in der Guttationsintensität etwa

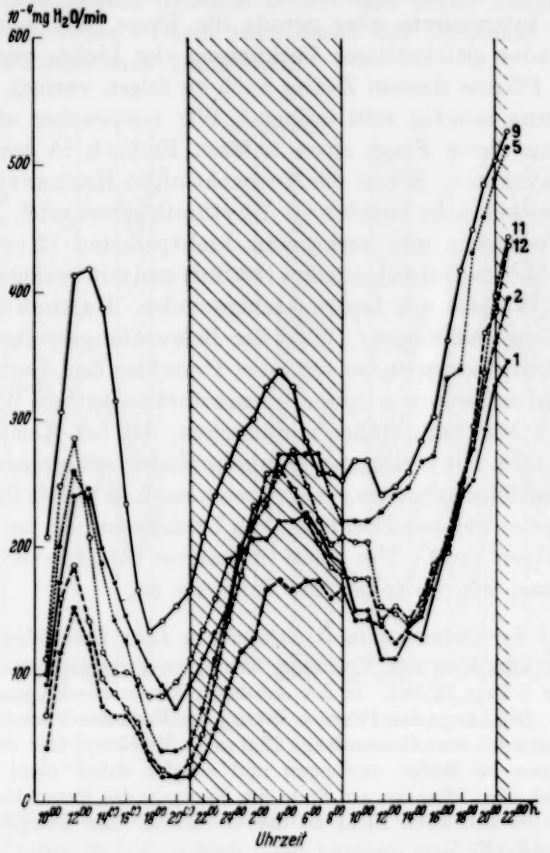


Abb. 4. Verlauf der Guttation im 12:12-Std-Licht-Dunkelwechsel 1.—2. 11. 51.

7—8 Std, in der folgenden Lichtperiode 3—5 Std nach dem vorangegangenen Beleuchtungswechsel ein. Der wahre Zeitpunkt des Guttationsumschwungs dürfte aber infolge der stark ansteigenden Guttationstendenz nicht mit dem beobachteten völlig übereinstimmen. Das tatsächliche Maximum dürfte etwas früher, das Minimum etwas später zu suchen sein, da stark steigende Guttation den Wendepunkt im Bereich des Maximums hinausschiebt, den im Bereich des Minimums zu früh erscheinen lassen muß. Wenn somit die beiden Versuche über den 12:12-Std-Licht-Dunkelwechsel nicht in allen Einzelheiten überein-

stimmten, so brachten sie in großen Zügen doch das gleiche Ergebnis. Sie zeigten, daß der Hafer tagesperiodisch guttieren kann, genau so wie *Kalanchoe Bloßfeldiana*.

Ein kürzerer als der 6:6stündige Licht-Dunkelwechsel mit gleich langen Licht- und Dunkelperioden wurde von HEIMANN nicht untersucht. Uns interessierte aber gerade die Frage, wie weit bei immer weiter gehender gleichzeitiger Verkürzung der Licht- und Dunkelabschnitte die Pflanze diesem Zwang noch zu folgen vermag. Kann man die Verkürzung beliebig weit treiben? Wir versprachen uns von einer Beantwortung dieser Frage einen tieferen Einblick in den Ablauf des Guttationsrhythmus. Schon die Beobachtungen HEIMANNs lassen vermuten, daß es eine sehr kurzfristige Rhythmik geben muß. Er arbeitete in einigen Versuchen mit verkürzten Lichtperioden (4 und 2 Std) im Wechsel mit langen Dunkelperioden (10 Std) und mit verkürzten Dunkelperioden im Wechsel mit langen Lichtperioden. HARDER (1949) schloß aus diesen Untersuchungen: „Wird der Beleuchtungswechsel früher als nach 6 Std vorgenommen, so tritt der Umschlag der Guttationsintensität dagegen mit wenigen Ausnahmen sofort nach dem Beleuchtungswechsel ein." Man kann daher voraussehen, daß bei Kombination von verkürzten Licht- mit verkürzten Dunkelperioden ein entsprechend verkürzter Guttationsrhythmus zutage treten muß, da jedem Beleuchtungswechsel, einerlei welcher Richtung, ein Umschwung in der Guttationsintensität folgen muß. Um diese Annahme auf ihre Richtigkeit zu prüfen, stellten wir die folgenden Versuche an.

Verlauf der Guttation im 3:3stündigen Licht-Dunkelwechsel.

Versuch 5. Das Alter der Keimlinge betrug zu Versuchsbeginn am 10. 5. 51 morgens 7 Uhr 5 Tage 22 Std. In den sonstigen Versuchsbedingungen trat keine Änderung ein. Die Länge der Pflanzen betrug am Ende des Versuchs: Koleoptile 21,2, Primärblatt 1,7, also Gesamtlänge 22,9 mm. Mesokotyl und unterer Teil der Koleoptile waren im Boden verborgen und wurden daher nicht mitgemessen. Obwohl bei fast allen Pflanzen am Ende des Versuchs das Primärblatt erschienen war, beteiligte es sich noch nicht an der Guttation. Die Temperatur bewegte sich zwischen 17—18° C.

Auch im 3:3stündigen Zyklus (s. Abb. 5) verläuft die Guttation periodisch, und zwar stimmt die Länge der Guttationswellen mit der Länge der Licht-Dunkelperioden ziemlich genau überein, wenn man von der ersten sehr starken Welle absieht (Lichtguttationsreaktion). Natürlich sind die Amplituden wesentlich kleiner als die des 6:6 und 12:12stündigen Zyklus. Die Maxima liegen im Bereich der Lichtperioden, die Minima im Bereich der Dunkelperioden, und es scheint, als ob hier eine Umkehrung der Verhältnisse des 12:12stündigen Zyklus vorliegt, bei dem gerade umgekehrt die Maxima im Dunkeln und die Minima im Licht liegen (s. Abb. 3 und 4). Tatsächlich aber haben wir es hier mit keiner Umkehrung zu tun, wie im Schlußabschnitt gezeigt werden soll.

Den Einfluß des kurzfristigen Licht-Dunkelwechsels erkennt man bereits im Bereich der großen Lichtguttationswelle (von 8—18 Uhr), der die kleineren Wellen aufgelagert sind. So hat z.B. der um 10 Uhr vorgenommene erste Wechsel von Licht nach Dunkelheit das Maximum der Lichtguttationswelle deutlich erhöht und deren Abfall um etwa 1 Std hinausgeschoben. Darin äußert sich der fördernde Einfluß des Wechsels von Licht nach Dunkelheit.

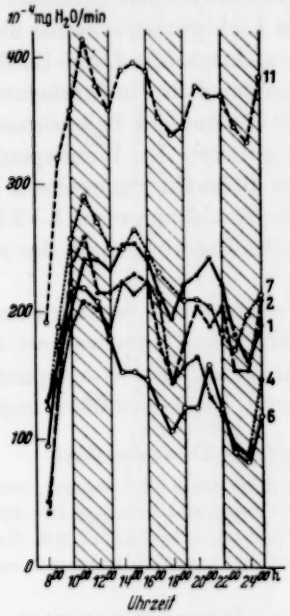


Abb. 5. Verlauf der Guttation im 3:3-Std-Licht-Dunkelwechsel 10.—11. 5. 51.

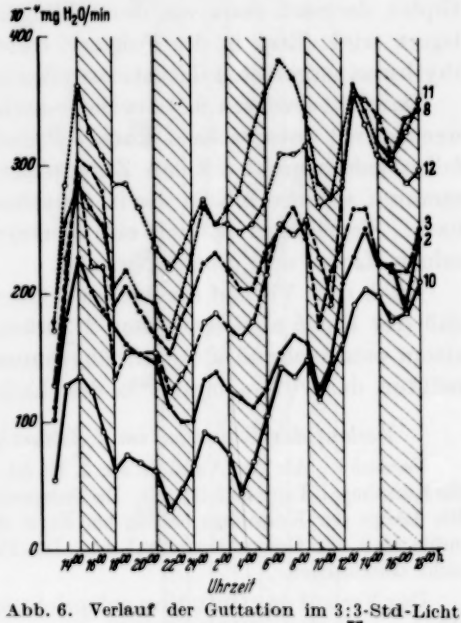


Abb. 6. Verlauf der Guttation im 3:3-Std-Licht-Dunkelwechsel 22.—23. 11. 51.

In der zweiten Lichtperiode erkennen wir erneut einen Anstieg der Guttation, ebenso in der dritten. Im zweiten und dritten Dunkelabschnitt liegen jedesmal mehr oder weniger gut ausgebildete Minima. Bei den meisten Pflanzen setzt der Guttationsumschwung während der einzelnen Beleuchtungsperioden, wie im 6:6stündigen Turnus, etwa 1—2 Std nach dem jeweils vorangegangenen Beleuchtungswechsel ein. Aus den gleichen Gründen wie früher wiederholten wir auch diesen Versuch.

Versuch 6. Das Alter der Keimlinge betrug zu Versuchsbeginn am 22. 11. 51 mittags 12 Uhr 4 Tage 23 Std. Die Temperatur bewegte sich zwischen 17,5—19,0° C. Am Ende des Versuchs wurden folgende Längen gemessen: Mesokotyl 2,7, Koleoptile 24,9, Primärblatt 2,7, also Gesamtlänge 30,3 mm. Nach Durchbruch des Primärblattes wurden dessen Guttationstropfen mit denen der Koleoptile vereinigt.

Das Ergebnis unterscheidet sich nicht wesentlich von dem des früheren Versuchs (s. Abb. 6). Schon von der zweiten Lichtperiode an beginnt ein regelmäßiger Rhythmus mit den Maxima während der Lichtperioden und den Minima während der Dunkelperioden. Der auf der Höhe der Lichtguttationswelle vorgenommene erste Wechsel von Licht nach Dunkelheit hemmt auch hier bereits den Guttationsabfall, wenn auch nicht so deutlich wie im Versuch vorher. In der zweiten Lichtperiode erkennen wir den ersten durch den Lichtrhythmus verursachten Gipfel, der noch stark von der abklingenden Lichtguttationswelle überlagert wird. Erst in der Folgezeit treten die durch den Licht-Dunkelrhythmus ausgelösten Guttationswellen immer deutlicher in Erscheinung.

Damit ist erwiesen, daß der Hafer auch im 3 : 3stündigen Beleuchtungswechsel mit entsprechend kurzen Perioden guttiert. Die Wendepunkte fallen jedoch nicht mit den Zeitpunkten des Beleuchtungswechsels zusammen, sondern hinken wie im 6 : 6stündigen Zyklus um etwa 1—2 Std nach. Sie erhalten dadurch eine asymmetrische Lage innerhalb der einzelnen Licht- und Dunkelperioden.

Nach dem Verlauf der beiden letzten Versuche war vorauszusehen, daß der Hafer auch auf einen 2 : 2stündigen Licht-Dunkelwechsel mit einem entsprechend kürzeren Rhythmus antwortet. Die Wendepunkte müßten dann etwa mitten in den Licht- und Dunkelperioden liegen.

Verlauf der Guttation im 2 : 2stündigen Licht-Dunkelwechsel.

Versuch 7. Als der Versuch am 7. 12. 51 morgens um 8 Uhr begann, waren die Keimlinge 5 Tage 23,5 Std alt. Die Temperatur bewegte sich zwischen 18—19° C. Die Länge der Keimlinge betrug am Ende des Versuchs: Mesokotyl 8,6, Koleoptile 19,9, also Gesamtlänge 28,5 mm. Das Primärblatt hatte die Koleoptile noch nicht durchstoßen.

Der Verlauf der Guttation entspricht unseren Erwartungen (s. Abb. 7). Wieder hat bereits der erste Wechsel von Licht nach Dunkelheit den Abfall der großen Lichtguttationswelle hinausgeschoben und damit die Guttationsintensität zu einer Zeit gefördert, in der sonst ein starker Abfall die Regel ist. Auch auf dem absteigenden Ast der großen Anfangswelle macht sich der Einfluß des kurzfristigen Beleuchtungswechsels in einer deutlichen Stufe (um 17 Uhr) bemerkbar, die sonst hier nicht vorhanden ist. Von der dritten Lichtperiode an tritt sodann der Guttationsrhythmus bereits klar in Erscheinung: kurz anhaltende Maxima in den Lichtperioden. Minima in den Dunkelperioden. Die Wendepunkte liegen wie erwartet meistens in der Mitte der Perioden.

Der Versuch mußte nach 14 Std abgebrochen werden. Vermutlich wäre der 2 : 2stündige Turnus in der Folgezeit noch deutlicher in Erscheinung getreten, da er hier nicht mehr von der Lichtguttationswelle überlagert wird. Wir stellten daher folgenden Versuch an.

Versuch 8. Während der ersten 14 Std nach Versuchsbeginn, also während des Ablaufes der Lichtguttationswelle, wurden keine Guttationsmessungen vor-

genommen. Die Keimlinge waren aber bereits dem Licht-Dunkelwechsel unterworfen. Wir benutzten eine elektrische AEG-Schaltuhr, die den gewünschten Beleuchtungswechsel automatisch durchführte. Nach allen unseren bisherigen Versuchen war die Lichtguttationsreaktion nach 14 Std sicher abgeklungen, so daß der weitere Verlauf der Kurven nicht mehr durch sie gestört werden konnte. Das Alter der Keimlinge betrug zu Beginn des Versuchs am 12. 12. 51 abends 18 Uhr 4 Tage 22,5 Std. Am nächsten Morgen um 8 Uhr wurden die Keimlinge zu Beginn

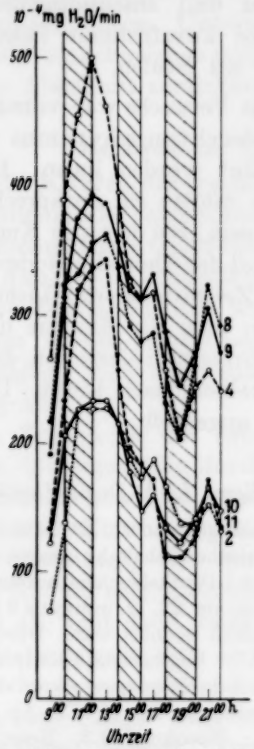


Abb. 7. Verlauf der Guttation im 2:2-Std-Licht-Dunkelwechsel 7. 12. 51.

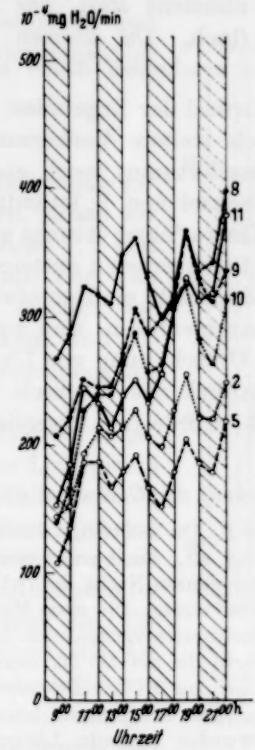


Abb. 8. Verlauf der Guttation im 2:2-Std-Licht-Dunkelwechsel 12.—13. 12. 51.

der vierten Dunkelperiode vom anhaftenden Guttationswasser durch Abtupfen mit Filtrierpapier befreit, und 1 Std später begannen die ersten Messungen. Die Temperatur bewegte sich während der ganzen Zeit zwischen 18—19°C. Nach Durchbruch des Primärblattes wurden dessen Guttationstropfen mit denen der Koleoptile vereinigt. Am Ende des Versuchs wurden folgende Längen gemessen: Koleoptile 25,2, Primärblatt 3,3, also Gesamtlänge 28,5 mm. Das Mesokotyl kam nur bei 4 Keimlingen gerade aus dem Boden, so daß dessen Länge nicht gemessen werden konnte.

Es zeigte sich (s. Abb. 8), daß auch nach Abklingen der Lichtguttationsreaktion die Pflanzen dem 2:2stündigen Licht-Dunkelwechsel genau folgen. Im Licht liegen kleine Maxima, im Dunkeln kleine Minima. Die Kurven schließen in ihrem Auf und Ab unmittelbar da an, wo die

Kurven des vorhergegangenen Versuchs aufhörten, was durchaus verständlich ist, da ja der letzte mit Beginn der vierten Dunkelperiode abgebrochen wurde, während beim vorliegenden Versuch die Messungen mit Beginn der vierten Dunkelperiode ihren Anfang nahmen. Die Gesamttendenz der Guttation ist, wie regelmäßig um diese Zeit, ziemlich stark ansteigend. Infolgedessen ist der Aufstieg zu den kleinen Maxima meistens steil, der Abstieg zu den anschließenden kleinen Minima flach. Die kleinen Wellen des kurzfristigen Beleuchtungsrhythmus erscheinen daher häufig nur als Stufen.

Auf Grund der Ergebnisse der letzten Versuche war vorauszusehen, daß durch weitere Verkürzung des Beleuchtungsrhythmus auch der Guttationsrhythmus noch enger gestaltet werden kann. Im Licht-Dunkelwechsel von 1 : 1stündiger Dauer müßte ein entsprechend verkürzter Guttationsrhythmus auszulösen sein, bei dem die Kurven während der Lichtperioden ansteigen, während der Dunkelperioden abfallen. Die Wendepunkte müßten etwa mit den Zeitpunkten der Lichtumschaltung zusammenfallen, und zwar müßten sich die Maxima im Augenblick der Umschaltung von Licht nach Dunkelheit einstellen, die Minima im Augenblick des Wechsels von Dunkelheit nach Licht. Um dieses zu prüfen, wurde der folgende Versuch angestellt.

Verlauf der Guttation im 1:1 stündigen Licht-Dunkelwechsel.

Versuch 9. Die Keimlinge waren zu Versuchsbeginn am 21. 12. 51 abends 19 Uhr 5 Tage 8 Std alt. Die bereits erwähnte elektrische Schaltuhr sorgte dafür, daß während der ganzen Nacht der 1 : 1stündige Licht-Dunkelwechsel automatisch aufrechterhalten wurde. Die erste Messung erfolgte am 22. 12. morgens 9 Uhr, nachdem die Lichtguttationsreaktion erfahrungsgemäß beendet war. Durch ein Versehen dauerte die am 22. 12. morgens um 7 Uhr beginnende Lichtperiode nicht bis 8, sondern bis 9 Uhr. Die sonstigen Versuchsbedingungen waren die gleichen wie bisher. Die Temperatur bewegte sich zwischen 19—20° C. Am Ende des Versuchs wurden folgende Längen gemessen: Mesokotyl 3,3, Koleoptile 19,3, Primärblatt 0,6, also Gesamtlänge 23,2 mm. Die Primärblätter beteiligten sich noch nicht an der Guttation.

Wieder entspricht das Ergebnis unseren Erwartungen (s. Abb. 9). In den kurzen Lichtperioden ist die Guttationsintensität ausnahmslos beschleunigt, in den Dunkelperioden regelmäßig verlangsamt. Zwar steigt sie oft auch im Dunkeln, aber das Tempo ist dann stets geringer als im Licht. Als Ursache für diese scheinbaren Ausnahmen ist die stark steigende Tendenz der Guttation anzusehen, wodurch die kleinen Wellen des Rhythmus häufig eingeebnet werden. Jedenfalls knicken im Augenblick einer jeden Lichtumschaltung die Kurven aufwärts oder abwärts ein, je nachdem der Wechsel von Dunkelheit nach Licht oder umgekehrt vorgenommen wird. Das Ganze erweckt den Eindruck, als ob das Licht die Guttation fördere, Dunkelheit sie hemme. Tatsäch-

lich aber wird die Lage der Maxima und Minima durch die Verzögerung bestimmt, die ein jeder Beleuchtungswechsel in seiner Wirkung auf die Guttation zur Folge hat und die etwa 1 Std beträgt.

Vermutlich kann der Guttationsrhythmus noch weiter verkürzt werden. Da aber die Amplituden immer geringer werden, die Fehlerquellen jedoch gleichbleiben, dürfte ein kürzerer Rhythmus nur mit noch empfindlicheren Untersuchungsmethoden und Meßverfahren nachweisbar sein. Wir werden darauf im folgenden Abschnitt zurückkommen.

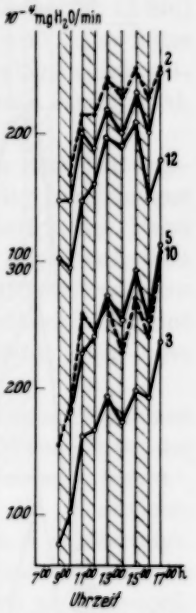


Abb. 9. Verlauf der Guttation im 1:1-Std-Licht-Dunkelwechsel 21. bis 22. 12. 51.

Diskussion der Ergebnisse.

Um die Kurven der verschiedenen Beleuchtungszyklen miteinander vergleichen zu können, haben wir die durchschnittliche Guttation der Versuche 1, 3 und 6—9 in Abb. 10 so dargestellt, als ob alle Versuche zur selben Zeit angelaufen wären. Wir machen dabei keinen Fehler, da die Lage der Maxima und Minima lediglich vom Zeitpunkt des Versuchsbeginns abhängig ist.

Allen Zyklen ist die große Guttationswelle gemeinsam, die regelmäßig durch den ersten Lichtgenuß der Keimlinge ausgelöst wird. Diese Welle erreicht 3—4 Std nach Einschalten des Lichtes ihren höchsten Stand. Unabhängig von der Art des Licht-Dunkelwechsels fällt sie nach Überschreiten des Höhepunktes 5—7 Std ab, erst dann setzt eine Erholung ein. Die Lichtguttationswelle läßt sich somit durch die Art des Beleuchtungswechsels nicht wesentlich beeinflussen. Sie wird zwar exogen ausgelöst, ihr Verlauf ist dagegen endogen bedingt. Damit werden unsere früheren Beobachtungen bestätigt, die gezeigt hatten, daß die Lichtguttationswelle sowohl im Dauerlicht als auch bei intermittierender Beleuchtung (Licht nur während der kurzen Zeit jeder Messung) einen nahezu übereinstimmenden Verlauf nimmt (Engel und Friederichsen 1951).

Dennoch bleiben die während ihrer Dauer vorgenommenen Lichtumschaltungen nicht ganz ohne Wirkung. Im 3:3- und 2:2stündigen Zyklus wird das Maximum hinausgeschoben oder es verzögert sich der anschließende Guttationsabfall. Auch die nach dem Gipfel vorgenommenen Lichtumschaltungen machen sich bemerkbar, wie die Stufen am abklingenden Ast der Guttationswelle erkennen lassen. Im 6:6stündigen Zyklus bewirkt der erste Wechsel von Licht nach Dunkelheit eine

vorzeitige Erholung, indem bereits 2 Std nachher eine kräftige Aufwärtsbewegung der Guttationskurve einsetzt, während im 12:12stündigen Zyklus die Kurve um diese Zeit noch nicht wieder aufsteigt.

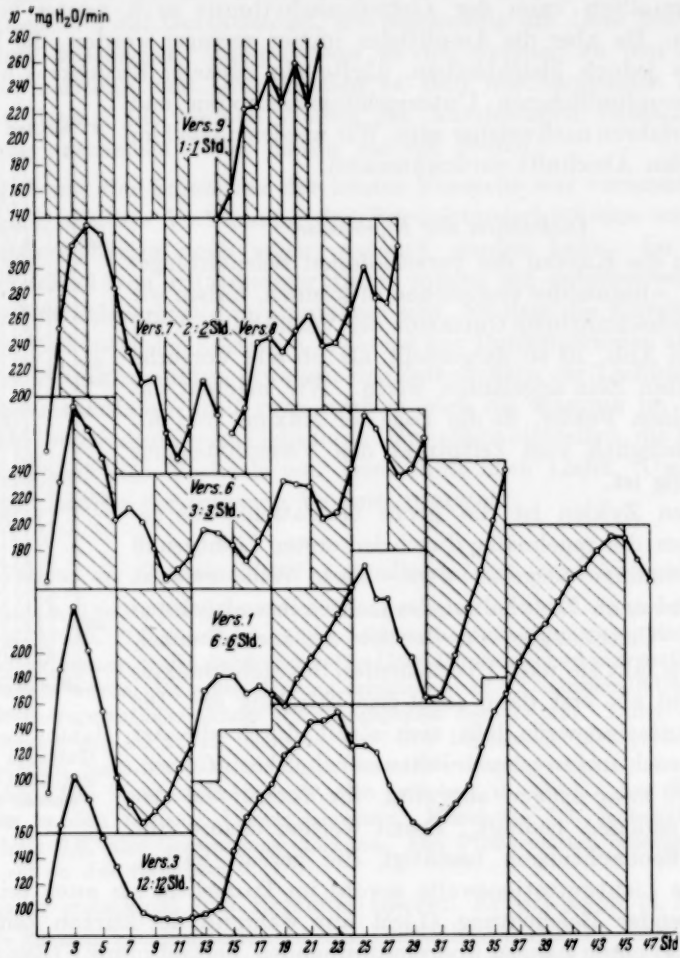


Abb. 10. Durchschnittskurven des 1:1-, 2:2-, 3:3, 6:6- und 12:12-Std-Licht-Dunkelwechsels.

Wir können aus alledem schließen, daß die der Lichtguttationswelle zugrunde liegende Reaktion nicht die gleiche ist wie die, welche im wiederholten Licht-Dunkelwechsel den Rhythmus in Gang hält. In der ersten äußert sich die endogene, in der zweiten die exogene Seite des Guttationsrhythmus. Die verschiedene Natur beider zeigt sich auch darin, daß der erste Wechsel von Dunkelheit nach Licht die Guttations-

intensität zunächst stark ansteigen läßt, während später der gleiche Wechsel stets ein Absinken zur Folge hat.

Der Verlauf der Kurven in Abb. 10 zeigt klar, daß die Frequenz der Licht-Dunkel- und der Guttationsperioden völlig übereinstimmt. Länge und Höhe der Guttationswellen richten sich ganz nach der Art des Beleuchtungswechsels. Je kürzer dieser ist, desto kürzer und niedriger sind auch die Guttationswellen. Mit kleiner werdenden Perioden verschieben sich die Maxima aus dem Bereich der Dunkelperioden (12:12 Std) über den Anfang der Lichtperioden (6:6 und 3:3 Std) und deren Mitte (2:2 Std) bis an deren Ende (1:1 Std). Die Minima verlagern sich entsprechend von der Mitte der Lichtperioden an das Ende der Dunkelperioden.

Bezogen auf den Zeitpunkt des vorangegangenen Beleuchtungswechsels bleibt jedoch die Lage der Wendepunkte bei den kurzfristigen Rhythmen (bis zu 6:6 Std) unverändert. Sie erscheinen in der Regel 1 Std nach diesem. Daraus folgt, daß es nicht Licht oder Dunkelheit als solche sind, die den Guttationsumschwung herbeiführen, sondern daß hierfür der Lichtintensitätswechsel allein verantwortlich ist. Seine Richtung entscheidet darüber, ob die Guttationsintensität steigt oder fällt.

Wie bereits erwähnt, verstreicht bei den kurzfristigen Rhythmen vom Zeitpunkt einer jeden Lichtumschaltung bis zum Wendepunkt der Guttation in der Regel 1 Std. Wie diese Verspätung zustande kommt, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Möglich ist, daß die „Reaktionszeit" des vom Lichtwechsel ausgehenden Reizes etwa 1 Std beträgt. Vielleicht kommt in der Verzögerung der Weg zum Ausdruck, den die Guttationswelle vom noch unbekannten Reaktionsort bis zur Koleoptilspitze zurücklegt. Den Kurven Heimanns läßt sich nicht entnehmen, ob auch *Kalanchoe* eine solche „Reaktionszeit" besitzt. Seine Meßintervalle waren mit 2 Std zu lang, um hierüber etwas auszusagen.

Wahrscheinlich dürfte die Guttationsrhythmik des Hafers noch unter die 1:1 Std-Grenze verkürzt werden können. Eine einfache Überlegung zeigt, daß auch im 0,5:0,5stündigen Zyklus die Wendepunkte der Guttation mit den Zeitpunkten der Lichtumschaltung zusammenfallen. Zum Unterschied gegenüber dem 1:1stündigen Zyklus müßten die Maxima mit dem Wechsel von Dunkelheit nach Licht, die Minima mit dem Wechsel von Licht nach Dunkelheit zeitlich übereinstimmen, vorausgesetzt, daß die Verzögerung 1 Std beträgt.

Schon Harders (1949) Diskussion der Versuchsergebnisse Heimanns (1950) deckte die wesentlichen Zusammenhänge zwischen Beleuchtungs- und Guttationsrhythmus auf. Unsere Versuche haben gezeigt, daß beim Hafer der Sachverhalt ähnlich, wenn nicht gar genau so liegt wie bei *Kalanchoe*. Es ist sehr wahrscheinlich, daß eine solche periodische Guttation noch bei zahlreichen weiteren Pflanzen aufgefunden wird, und wir es mit einem weit verbreiteten Phänomen zu tun haben. Wir

haben daher versucht, ausgehend von den Gedanken HARDERs (1949), das bisherige Tatsachenmaterial zu einer Hypothese zu verarbeiten, die alle Beobachtungen so weit wie möglich unter einen einheitlichen Gesichtspunkt bringt.

Der Guttationsrhythmus kommt vermutlich unter Beteiligung eines lichtwechselempfindlichen, labilen Gleichgewichtssystems zustande, dessen Seiten reversibel ineinander überführbar sind. Wir nennen sie die (+)- und die (—)-Seite entsprechend ihrer guttationsfördernden oder -hemmenden Wirkung. Beim Wechsel von Licht nach Dunkelheit tritt eine totale Verschiebung nach der (+)-Seite ein, und die Folge ist ein unvermitteltes Ansteigen der Guttation. Die „Reaktionszeit" wollen wir bei dieser Betrachtung außer acht lassen. Beim Wechsel von Dunkelheit nach Licht tritt eine totale Verschiebung nach der (—)-Seite ein, wodurch diese unvermittelt wirksam wird. Diese von außen bewirkten Gleichgewichtsverschiebungen stellen die exogene Seite der Guttationsrhythmik dar, wie sie bei den kurzfristigen Zyklen in Erscheinung tritt.

Nach jedem Beleuchtungswechsel findet eine langsame endogene Rückverschiebung des Gleichgewichtes bis zur entgegengesetzten Seite statt, so daß diese unvermittelt wirksam wird. Diese endogene, zu einem Guttationsumschwung führende Reaktion dauert etwa 6 Std. Wird kein weiterer Beleuchtungswechsel vorgenommen, kann sich das Gleichgewicht noch einige Mal wie ein Pendel hin und her verschieben, und wir beobachten allmählich ausklingende Guttationswellen von etwa 12 Std Dauer (HEIMANN 1950, ENGEL und FRIEDERICHSEN 1951).

Wird *nach* einem endogenen Guttationsumschwung ein Beleuchtungswechsel vorgenommen wie im 12:12-, 10:10-, 8:8stündigen oder einem ähnlich langen Zyklus, folgt diesem Beleuchtungswechsel kein sichtbarer Wendepunkt, da der äußere Wechsel die Guttation zwingt, die Richtung beizubehalten, die sie durch den vorangegangenen inneren Umschwung bereits erhalten hat. Betrachten wir als Beispiel den 12:12stündigen Zyklus, der in idealer Form zusammen mit dem 6:6- und 3:3-Std-Rhythmus in Abb. 11 wiedergegeben ist. Die Zeitpunkte des endogenen Umschwungs sind darin durch Kreise, die des exogenen durch Quadrate mit (+)- und (—)-Zeichen gekennzeichnet, je nachdem das Gleichgewicht nach der (+)- oder (—)-Seite verschoben ist. Im 12:12stündigen Zyklus wird die (—)-Seite regelmäßig mitten in den Dunkelperioden wirksam, die (+)-Seite regelmäßig mitten in den Lichtperioden. Fangen wir zunächst bei einem solchen (—)-Punkt in der Dunkelphase an. Nach Aktivierung desselben strebt das Gleichgewicht endogen der (+)-Seite zu. In dem Zeitpunkt, wo diese erreicht und erneut ein endogener Umschwung zu erwarten ist, wird Licht eingeschaltet und die Folge ist eine totale Regeneration der (—)-Seite. Infolgedessen sinkt die Guttationsintensität weiter ab und der endogene Umschwung wird um

6 Std verzögert. Er fällt jetzt mitten in die Lichtperiode und liegt 6 Std hinter dem vorangegangenen Beleuchtungswechsel. Abermals 6 Std später wäre wieder ein endogener Umschwung fällig und der Aufstieg müßte in Abstieg übergehen. Gerade zu diesem Zeitpunkt wird verdunkelt. Das Gleichgewicht wird infolgedessen nach der (+)-Seite zurückgedrückt und der Umschwung erneut um 6 Std hinausgeschoben. Er kommt mitten in die folgende Dunkelperiode zu liegen. Hierdurch wird eine ideale Synchronisierung der täglichen Perioden größter und geringster endogener Aktivität mit den täglichen Perioden größter und geringster Lichtintensität (oder umgekehrt) herbeigeführt.

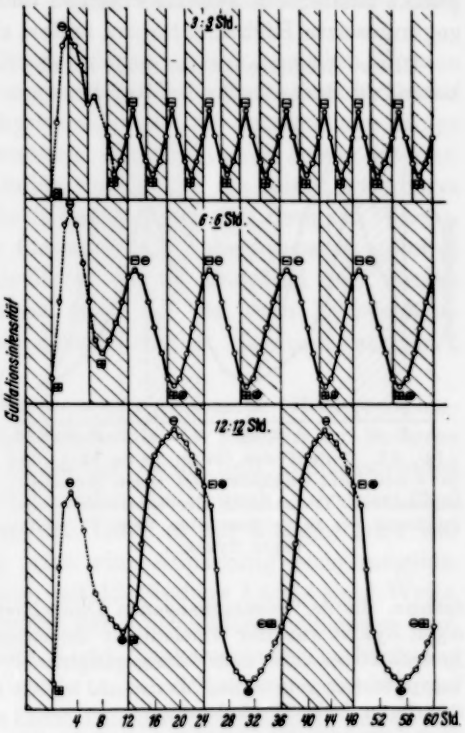


Abb. 11. Idealer Verlauf der Guttation im 3:3-, 6:6- und 12:12-Std-Licht-Dunkelwechsel. Ausgezogene Kurvenstrecken = exogen bedingt; punktierte Kurvenstrecken = endogen bedingt; □ = exogen bedingte Wendepunkte, ○ = endogen bedingte Wendepunkte.

Im 12:12stündigen Zyklus folgt somit auf jeden endogenen Umschwung ein exogener, der nach außen nicht in Erscheinung tritt, da er zu keiner Änderung in der Guttationsrichtung führt. Man kann ihn aber daran erkennen, daß Kurvenaufstieg und -abfall im Zeitpunkt des Beleuchtungswechsels oft eine Beschleunigung erfahren. Das zeigen die Abb. 7, 14, 15, 21, 22 und 24 der Arbeit HEIMANNS (1950), die den Kurvenverlauf verschiedener langfristiger Zyklen bringen, zum Teil recht deutlich. Auch die Guttationskurven des Hafers ließen gelegentlich diese plötzliche Beschleunigung kurz nach einem Beleuchtungswechsel erkennen.

Wird 6 Std nach einem endogenen Guttationsumschwung kein Beleuchtungswechsel vorgenommen wie z. B. bei länger als 12 Std dauernden Licht- oder Dunkelperioden, muß zu dem Wendepunkt noch ein zweiter, entgegengerichteter Wendepunkt im Abstand von 6 Std hinzukommen. Das ist auch nicht selten der Fall, wie man den Abb. 24 und 30 der Arbeit HEIMANNS (1950) entnehmen kann.

Im 6:6stündigen Zyklus fallen daher die endogenen Wendepunkte der Guttation mit den Zeitpunkten des Beleuchtungswechsels zusammen oder folgen wenig später. Darüber hinaus haben endogen und exogen bedingter Umschwung die gleiche Richtung. Auch im 12:12stündigen Zyklus fällt jeder Beleuchtungswechsel mit einem endogenen Wendepunkt zusammen, aber da endogen und exogen bedingter Wechsel entgegengesetzte Richtung haben, ändert sich nach außen scheinbar nichts.

Unsere Arbeitshypothese stößt bei der Deutung jener Kurven auf Schwierigkeiten, die HEIMANN für den Rhythmus mit ungleich langen Dunkel- und Lichtperioden erhielt (12:4, 12:2, 4:10 und 2:10 Std). Bei diesen traten die Wendepunkte in den langen Perioden nicht 6 Std nach dem Beleuchtungswechsel auf, wie es unsere Ansicht forderte, sondern sie verspäteten sich um weitere 2—4 Std. Sieht man genauer hin, war die Zeit, um welche sich die Wendepunkte über 6 Std verspäteten, etwa gleich der Zeit, die der vorangegangenen Beleuchtungsperiode an 6 Std fehlte. Im 12:4-stündigen Zyklus z. B. trat der Umschwung während der Lichtperiode nicht 6, sondern 8 Std nach dem Beleuchtungswechsel ein. Die Verzögerung war mit 2 Std genau so groß wie die Zeitspanne, die der vorangegangenen Dunkelperiode an 6 Std fehlte. Im 12:2stündigen Zyklus war der Wendepunkt dementsprechend um 4 Std hinausgeschoben. Er trat 10 Std nach dem vorangegangenen Beleuchtungswechsel ein. Die gleichen Verspätungen zeigte das Maximum in den Dunkelperioden im 4:10 und 2:10-stündigen Licht-Dunkelwechsel.

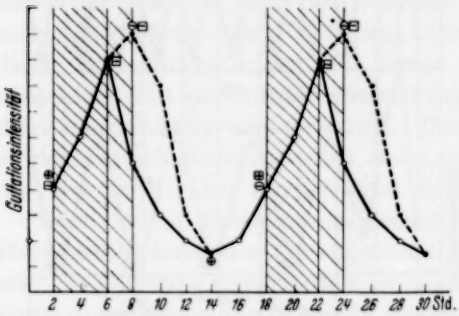


Abb. 12. Verlauf der Guttation im 12:4- und 10:6-Std-Licht-Dunkelwechsel (nach HEIMANN, abgeändert). Gestrichelte Kurvenstrecke = Abweichung des 10:6- gegenüber dem 12:4stündigen Zyklus.

In Wirklichkeit handelte es sich nicht um eine Verspätung des endogenen Umschwungs in den langen Perioden, sondern um eine Vorverlegung des vorangegangenen Wendepunktes. Betrachten wir noch einmal den 12:4stündigen Zyklus, der zusammen mit dem 10:6stündigen in idealer Form in Abb. 12 wiedergegeben ist. Im Augenblick des Beleuchtungswechsels wird beim ersten der aus der Dunkelperiode noch vorhandene Rest der (+)-Seite (ausreichend für noch 2 Std Aufstieg) momentan in wirksame (—)-Seite umgewandelt. Diese ist nach 2 Std verbraucht, und danach setzt der endogene, immer um diese Zeit fällige Abstieg den exogen bereits herbeigeführten um weitere 6 Std fort. Wird somit die 6stündige Aufstiegsperiode der endogenen Rhythmik vorzeitig durch Lichteinschaltung abgebrochen, übt sie eine Nachwirkung mit entgegengesetztem Vorzeichen aus, die solange anhält, bis der endogene Wendepunkt erreicht ist. Entsprechendes gilt für die vorzeitige Unterbrechung der 6stündigen Abstiegsperiode durch Einschalten von Dunkelheit. Wird die Dunkelphase erst nach Überschreiten des endogenen Wendepunktes unterbrochen, z. B. nach 8 Std, findet keine Nachwirkung statt. In diesem Falle wird der aus der endogenen Gleichgewichtsverschiebung bereits gebildete, aber noch unwirksame Betrag der (+)-Seite (bereits ausreichend für 2-Std-Aufstieg)

durch den Beleuchtungswechsel sofort in (—)-Seite zurückverwandelt, so daß für den Abstieg weitere 6 Std zur Verfügung stehen. Entsprechendes gilt bei Verlängerung der Lichtperiode über die 6-Std-Grenze hinaus.

Schwierigkeiten bereitet auch die Klärung der Frage, warum der *erste* Wechsel von Dunkelheit nach Licht stets zu einem Anstieg der Guttation führt, während im wiederholten Wechsel von Dunkelheit nach Licht regelmäßig ein Abstieg zu beobachten ist. Dies ist mit unserem Gleichgewichtsschema einstweilen nicht zu vereinbaren.

Zum Schluß mag noch die Frage erörtert werden, welchen Nutzen die Pflanze von einem endogen-exogen gesteuerten Guttationsrhythmus hat. Wahrscheinlich ist der Rhythmus nicht die unmittelbare Folge des periodischen Beleuchtungswechsels, sondern dieser dürfte wesentlich tiefer angreifen. Wahrscheinlich versetzt er ein leicht erregbares Steuerungszentrum in periodische Schwingungen, von dem aus Wachstum, Permeabilität und andere fundamentale Lebensprozesse geleitet werden. Der Guttationsrhythmus dürfte nur als Endglied einer langen Kette von Reaktionen aufzufassen sein, die von dem lichtwechselempfindlichen Steuerungszentrum gelenkt werden, das uns erst durch die Guttation zugänglich wurde.

So gesehen, erscheint das endogen-exogen gesteuerte Gleichgewichtssystem vorteilhaft. Durch das Zusammenspiel der inneren und äußeren Faktoren kann es sich auf die Länge der Licht- und Dunkelperioden im natürlichen Tag-Nachtwechsel einstellen, die je nach Jahreszeit und geographischer Breite verschieden ist. Gäbe es nur die eine oder nur die andere Seite der Steuerung, wäre eine Anpassung nicht möglich. Würde z. B. nur endogen gesteuert, mit 12stündiger Länge einer Welle, ließe sich die Häufigkeit der Perioden der mutmaßlichen primären Vorgänge nicht mit der Frequenz der Licht-Dunkelperioden in Einklang bringen. Der innere Rhythmus würde täglich 2 Maxima und 2 Minima durchlaufen, während der äußere Licht-Dunkelwechsel täglich nur je ein Maximum und Minimum besitzt. Würde nur exogen gesteuert, wäre eine Angleichung zwar möglich, aber die Zeiten größter und geringster Intensität der Außenfaktoren könnten nicht mit den Zeiten größter und geringster Aktivität in der Pflanze in Übereinstimmung gebracht werden. Diese würden nicht in den Tag und in die Nacht fallen (oder umgekehrt), sondern in die Zeiten des Lichtwechsels, d. h. in die Morgen- und Abenddämmerung. Das scheint nicht immer zweckmäßig für die Pflanze zu sein, man denke etwa an die Atmung, das Wachstum, den enzymatischen Ab- und Aufbau u. a. Auch im Hinblick auf die Zusammenhänge zwischen endogener Rhythmik und Photoperiodismus (Bünning 1948, Harder 1949) scheint die Kombination exogener mit endogener Steuerung vorteilhafter zu sein als nur eine der beiden für sich.

Über die Beschaffenheit des hypothetischen Gleichgewichtssystems kann einstweilen nichts ausgesagt werden. Denkbar wäre ein licht-

wechselempfindlicher Stoff, der in 2 im reversiblen Gleichgewicht zueinander stehenden Formen vorliegt, oder ein mehr physikalisches Gleichgewicht, dessen Sitz in den plasmatischen Grenzschichten zu suchen ist und dessen Kolloidteilchen einer periodischen Auf- und Entladung als Folge des periodischen Beleuchtungswechsels unterliegen. Für alles das gibt es Anhaltspunkte, auf die wir hier nicht eingehen können.

Zusammenfassung.

1. Die bei etiolierten Haferkeimlingen durch den ersten Lichtgenuß ausgelöste Lichtguttationswelle ist in ihrem Verlauf endogener Natur. Lichtintensitätsschwankungen, die in ihrem Bereich auftreten, beeinflussen sie nur wenig. Ihre Dauer beträgt etwa 10—12 Std.

2. Die Lichtguttationswelle steht in unmittelbarem Zusammenhang mit den später folgenden, im wiederholten Licht-Dunkelwechsel auftretenden Guttationswellen.

3. Im 1:1-, 2:2-, 3:3-, 6:6- und 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel entspricht die Länge der Guttationswellen der Dauer der Beleuchtungsperioden. Ihre Amplituden nehmen in der gleichen Reihenfolge zu.

4. Im 6:6stündigen Licht-Dunkelwechsel vermindert sich die Guttationsintensität nach jedem Wechsel von Dunkelheit→Licht, während sie nach jedem Wechsel von Licht→Dunkelheit ansteigt.

5. Die Wendepunkte der so entstehenden Guttationswellen fallen zeitlich jedoch nicht ganz mit den Lichtumschaltungen zusammen, sondern verzögern sich um etwa 1 Std.

6. Die gleiche Verzögerung tritt auch in den kleinen Zyklen auf, so daß Guttationskurven entstehen, die infolge der Kürze der Perioden den Eindruck erwecken (3:3 und 2:2 Std), als ob Licht die Guttation fördere, Dunkelheit sie hemme. Im 1:1stündigen Zyklus ist dieser Eindruck sogar ein vollständiger. Tatsächlich aber führt auch bei den kleinen Zyklen jeder Wechsel von Dunkelheit→Licht zu einer Senkung und jeder Wechsel in umgekehrter Richtung zu einem Aufstieg der Guttation.

7. Im 1:1-, 2:2-, 3:3- und 6:6stündigen Zyklus wird die Guttationsrhythmik allein exogen durch den Beleuchtungsrhythmus in Gang gehalten.

8. Im 12:12stündigen Zyklus verspäten sich die Wendepunkte der Guttation nach jedem Beleuchtungswechsel nicht nur um 1 Std, sondern es tritt eine weitere Verzögerung von etwa 6 Std ein. Die Maxima und Minima fallen daher in die Mitte der Dunkel- und Lichtperioden. Sie werden rein endogen herbeigeführt.

9. Im 12:12stündigen Zyklus ist auch die exogene Komponente der Guttation wirksam. Diese hebt den 6 Std nach jedem Beleuchtungswechsel zu erwartenden endogenen Umschwung auf, so daß die der

Guttation durch den vorangegangenen endogenen Umschwung zugewiesene Richtung noch weitere 6 Std beibehalten wird. Dadurch kommt eine ideale Anpassung des Rhythmus an den Tag-Nachtwechsel zustande.

10. Es wird eine Arbeitshypothese aufgestellt, nach welcher der Guttationsrhythmus auf ein reversibles, lichtwechselempfindliches Gleichgewichtssystem zurückgeht.

Der Hochschulabteilung der Schulbehörde Hamburg danken wir für die Bereitstellung der Mittel zu diesen Untersuchungen.

Literatur.

Bünning, E.: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 2. u. 3, Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Berlin-Göttingen-Heidelberg **1948**. — Engel, H., u. I. Friederichsen: Das Licht als Ursache periodischer Guttationsschwankungen etiolierter Haferkeimlinge. Planta (Berl.) **39**, 309 (1951). — Harder, R.: Über die endogene Tagesrhythmik der Fermentaktivität, Guttation und Blütenbewegung bei *Kalanchoe Bloßfeldiana* und *Phaseolus multiflorus*. Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl., Biol.-physiol.-chem. Abt. **1949**. — Heimann, M.: Einfluß periodischer Beleuchtung auf die Guttationsrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 157 (1950).

Prof. Dr. H. Engel und Dr. I. Friederichsen, (24a) Hamburg 36, Jungiusstraße 6, Staatsinstitut für allgemeine Botanik.

Planta, Bd. 40, S. 550—554 (1952).

Kurze Mitteilung.

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Stuttgart.

KRITISCHES ZUR DARSTELLUNG DER OSMOTISCHEN ZUSTANDSGRÖSSEN IN DEN VERSCHIEDENEN LEHRBÜCHERN DER BOTANIK.

Von

HEINRICH WALTER.

(Eingegangen am 18. Juni 1952.)

Wohl kein Abschnitt in den Lehrbüchern wird so uneinheitlich behandelt wie die osmotischen Zustandsgrößen. Fast jeder Autor benutzt eine andere Bezeichnungsweise und mitunter widerspricht er sich selbst. Schon 1920 haben URSPRUNG und BLUM (Biol. Zbl. **40**, 193—216) auf diese Tatsache hingewiesen, aber sie besteht auch heute noch.

Eine weitere Verwirrung ist durch eine Arbeit von BURSTRÖM entstanden, nach der der Wanddruck nicht immer dem Turgordruck gleich sein soll, und neuerdings auch durch die Einführung des Begriffes des „Diffusionsdruckdefizits" der amerikanischen Autoren. Wir wollen an einigen Beispielen die Widersprüche nachweisen, zu den einzelnen Fragen Stellung nehmen und einen Vorschlag zu einer einheitlichen Behandlung machen.

URSPRUNG und BLUM hatten folgende Gleichung aufgestellt:

$$S_z = S_i - W\,(T)$$

Saugkraft der Zelle = Saugkraft des Zellinhalts minus Wanddruck (Turgor)

Gegen die Benützung des Ausdrucks „Saugkraft" wurde der Einwand gemacht, daß es keine Kraft im physikalischen Sinne ist, da sie in Atmosphären gemessen wird. Man müßte also „Saugdruck" sagen, was aber ein Widerspruch in sich ist. Wen die „Kraft", die hier ähnlich gebraucht wird, wie bei „Verdunstungskraft", „Lebenskraft" usw. stört, der kann „Saugung" oder „Sog" sagen. Unangenehmer ist jedoch bei einem Vortrag, daß man dauernd bald von „Saugkraft der Zelle", bald von „Saugkraft des Zellinhaltes" sprechen muß und dafür die Bezeichnungen S_z bzw. S_i zu setzen hat. Das schafft beim Zuhörer leicht Verwirrung.

Deshalb hat Verfasser vorgeschlagen, die Gleichung folgendermaßen zu fassen:

Saugkraft = Osmotischer Wert minus Wanddruck (Turgor).

Hierbei wird „Saugkraft" nur für die „Saugkraft der Zelle" benutzt und der osmotische Wert des Zellinhaltes auch in Atmosphären ausgedrückt und nicht nur in Mol Rohrzuckerlösung, wie es URSPRUNG

und BLUM vorschlugen. Irgendwelche Bedenken können meines Erachtens nicht dagegen bestehen. Gleichzeitig kommt damit zum Ausdruck, daß der *osmotische Wert* ein Maß für die Zellsaftkonzentration ist und nicht ein meßbarer Druck. Er ist ein „osmotisches Potential", das entweder als Saugkraft oder als hydrostatischer Druck in Erscheinung tritt.

Für dieses Atmosphärenäquivalent benutzen W. TROLL (Allgemeine Botanik Bd. I, S. 160, 1948) und SEYBOLD (Lehrbuch der Botanik Bd. II, S. 60, 1951) den Ausdruck „osmotischer Druck", der somit gar kein Druck ist. Kein Physiker wird damit einverstanden sein, wenn TROLL bei der Wasseraufnahme des Osmometers sagt (S. 161): „Geichzeitig sinkt der äquivalente osmotische Druck, der sich in den zunehmenden hydrostatischen Druck umsetzt." Der hydrostatische Druck im Osmometer ist ein osmotischer Druck und dieser nimmt mit der Wasseraufnahme zu, es sinkt nur der osmotische Wert, d. h. die Konzentration der Lösung in Atmosphären ausgedrückt. Aber TROLL selbst führt diese sonst nicht übliche Bezeichnung nicht konsequent durch, denn auf S. 163 sagt er, bei Pilzen „steigt der osmotische Wert auf 100 Atm.". Hier wird also der osmotische Wert nicht in Mol, sondern in Übereinstimmung mit uns in Atmosphären ausgedrückt.

Ebensowenig zweckmäßig ist bei TROLL und SEYBOLD die Unterscheidung eines „Ödetischen Wertes" in unbekannten Einheiten und seines Atmosphärenäquivalents des „Ödetischen Druckes", der nie als Druck meßbar ist, sondern nur als ein Quellungsdruck in Erscheinung treten kann (TROLL S. 166, SEYBOLD S. 64.

Auch STOCKER (Grundriß der Botanik, 1952) benutzt in der Gleichung der osmotischen Zustandsgrößen und dem Schema (Abb. 137) auf S. 113 an Stelle des osmotischen Wertes die Bezeichnung „osmotischer Druck", sagt aber auf der Seite vorher, wo er vom Osmometer spricht: „Der Wassereinstrom bewirkt in der Lösung einen Ausdehnungsdruck, der als osmotischer Druck bezeichnet wird." Hier ist es also ein hydrostatischer Druck, der dem Turgordruck entspricht und nicht dem osmotischen Wert, wie auf der nächsten Seite.

Genau denselben Widerspruch findet man bei MÄGDEFRAU (Botanik, 1951). Auf S. 61 oben bei der Besprechung des Osmometers bezeichnet er „den dabei entstehenden hydrostatischen Druck als osmotischen Druck". Auf derselben Seite unten setzt er aber in die Gleichung statt des osmotischen Wertes den „Osmotischen Druck des Zellsaftes" und der hydrostatische Druck ist plötzlich kein osmotischer Druck.

GÜTTENBERG (Lehrbuch der allgemeinen Botanik S. 398 und 400, 1951) spricht bei der Behandlung des Osmometers von einem osmotischen Wert der Zuckerlösung, bei der Zelle dagegen von der „Saugkraft des Zellinhaltes", wogegen nichts Grundsätzliches einzuwenden ist. Eine Bezeichnung würde aber in beiden Fällen genügen. Auf die Saugkraft des Zellinhaltes könnte man verzichten.

Bei HUBER (Pflanzenphysiologie S. 31, 1949) ist die Bezeichnungsweise beim Schema Abb. 14, S. 31 durchaus einwandfrei, aber weiter unten findet man den Satz, daß eine Zelle Wasser aufnimmt bis „der steigende Wanddruck dem osmotischen Druck das Gleichgewicht hält". Es sollte heißen, bis der steigende Wanddruck gleich dem osmotischen Wert wird, denn der osmotische Druck als hydrostatischer Druck ist stets gleich dem Wanddruck (s. unten). Dasselbe gilt für PAECH und SIMONIS (Übungen zur Stoffwechselphysiologie, 1952; bei Besprechung des Osmometers S. 46).

In der Darstellung, die SCHUMACHER im Lehrbuch der Botanik, S. 155, 1951 gibt, heißt es zunächst, daß in der PFEFFERschen Zelle beim Eintauchen in Wasser ein Überdruck entsteht, „den man als osmotischen Druck bezeichnet". Es ist also ein hydrostatischer Druck. Im nächsten Satz aber liest man, daß die Lösung so lange steigt „bis der hydrostatische Gegendruck der Flüssigkeitssäule die Größe des osmotischen Druckes erreicht und nun einer weiteren Volumenvergrößerung Halt gebietet". Hier ist also der „osmotische Druck" zur Saugkraft des Zellinhaltes, d. h. dem osmotischen Wert geworden. Im nächsten Satz wird dagegen wieder von einem osmotischen und nicht nur hydrostatischen Überdruck gesprochen. Auf S. 157 heißt es aber erneut, daß die Wand sich so lange elastisch spannt, „bis der jetzt voll entwickelte osmotische Druck in dem Gegendruck der gedehnten Wand seinen Widerpart findet". Auch hier wäre zu sagen, daß Druck und Gegendruck immer gleich sind. An Stelle von „osmotischer Druck" muß man aber in diesem Falle „osmotischer Wert" setzen, der sich jedoch weder voll entwickeln kann, noch ein Widerpart ist. Auf S. 159 benutzt Verfasser den Ausdruck „osmotischer Wert" durchaus in dem von uns vorgeschlagenen Sinne und drückt ihn in Atmosphären aus. Denselben Widerspruch findet man zwischen der Definition des osmotischen Druckes bei MEVIUS (MIEHES Taschenbuch der Botanik Bd. I, 1949) auf S. 137 und seiner Verwendung an Stelle des osmotischen Wertes auf S. 138—139.

Nun noch einige Worte über die Buchstaben für die verschiedenen Zustandsgrößen: S für Saugkraft wird allgemein gebraucht, für den osmotischen Wert wird oft O benützt und für den Wanddruck W. Die Gleichung heißt dann: $S = O—W$.

Hierbei ergibt sich jedoch die Schwierigkeit, daß O auch Null bedeutet und man bei Wassersättigung der Zelle schreiben muß: wenn $S = 0$ (Null) ist, dann ist $W = O$ (nicht Null, sondern osmotischer Wert).

Deshalb möchte Verfasser vorschlagen, für den Wanddruck den in der Physik für Drucke üblichen Buchstaben P zu verwenden und für den osmotischen Wert den Buchstaben W. (WALTER, Einführung in die Phytologie Bd. I, S. 63, 1950, auch Bd. III, S. 1, 1952.) Die Gleichung wäre also zu schreiben: $S = W—P$.

P kann dabei gleichermaßen für den Wanddruck und den Turgordruck benützt werden, da diese Größen als Wirkung und Gegenwirkung nach dem 3. NEWTONschen Axiom, das ein physikalisches Gesetz ist, immer gleich sind.

Allerdings wurde das kürzlich von BURSTRÖM (Plant Physiol. **1**, 57, 1948) angezweifelt. Er behauptet, daß die Gleichung nur dann gilt, wenn sich die Zelle im Gleichgewicht befindet. Nimmt sie dagegen Wasser auf, so ist der Turgor größer als der Wanddruck, gibt sie Wasser ab, dann ist der Wanddruck größer als der Turgor.

Diese Feststellung von BURSTRÖM hat eine lebhafte Diskussion hervorgerufen[1], als deren Ergebnis zum Teil mit sehr komplizierten Beweisführungen doch nur festgestellt wurde, daß Wirkung und Gegenwirkung immer gleich sind, woran wohl kein Physiker zweifelt.

Treffen die Überlegungen von BURSTRÖM zu, so würde es bedeuten, daß bei einem Osmometer während der Wasseraufnahme das Manometer ständig zu niedrige Werte anzeigt. Noch einfacher ist folgendes Beispiel: Stellen wir auf eine Federwaage ein Gefäß und lassen in dieses langsam Wasser einfließen, so wird die Feder der Waage ständig zusammengepreßt; trotzdem wird in jedem Augenblick die Waage das richtige Gewicht des Gefäßes anzeigen, es sei denn, sie ist verrostet und hat eine große Reibung. Wir können die Wägung auch in einem langsam fahrenden Aufzug (Lift) machen. Nur wenn der Aufzug plötzlich anfährt oder abbremst, zeigt die Waage ein zu hohes bzw. zu niedriges Gewicht an, weil nun auf das Gefäß außer der Schwerkraft noch eine zusätzliche Kraft, die Trägheitskraft, einwirkt. Da die Volumänderungen einer Zelle stetig vor sich gehen (von der Plasmoptyse abgesehen), so ist der Innen- dem Außendruck immer gleichzusetzen.

Eine weitere Komplikation ist durch die neue Terminologie des „Physical Methods Committee of the American Society of Plant Physiologits", wie sie von MEYER 1945 vorgeschlagen wurde, entstanden. Man kann sie bei CRAFTS-CURRIER-STOCKING (Water in the Physiology of Plants, Chronica Bot. Comp., Waltham, Mass, 1949) nachlesen.

Die osmotischen Verhältnisse werden folgendermaßen dargestellt: Taucht man ein Osmometer in Wasser, so wird das Wasser eindringen, weil der Diffusionsdruck des reinen Wassers größer ist als der des Wassers[2] in der Zuckerlösung des Osmometers. Gelöste Teile setzen den Diffusionsdruck des Wassers herab und es besteht im Osmometer ein Diffusionsdruckdefizit. Dieses Diffusionsdruckdefizit ist nichts anderes als die „Saugkraft" des Osmometers. Üblicherweise sagt man: Die Zuckerlösung besitzt ein Wasseranziehungsvermögen

[1] THODAY, D.: Ann. of Bot., N. s. **14**, 1—6 (1950); **16**, 129—131 (1952). — HAINES, F. M.: Ann. of Bot., N. s. **15**, 219—220 (1951). — SPANNER, D. C.: Ann. of Bot., N. s. **16**, 133—136 (1952). — WEATHERLEY, P. E.: Ann. of Bot., N. s. **16**, 137—142 (1952). — BROYER, T. C.: Plant Physiol. **25**, 135—139 (1950). — LEVITT, J.: Science (Lancaster, Pa.) **113**, 228—231 (1951).

[2] Es ist nicht einzusehen, warum nur von einem Diffusionsdruck des Wassers und nicht auch der gelösten Stoffe gesprochen wird.

und saugt das Wasser ein. Nach der amerikanischen Schule ist dagegen das Wasser der aktive Teil, es drückt in den Osmometer hinein.

Die von Meyer aufgestellte Gleichung ist demnach:

$$DPD = OP - TP$$

(Diffusion pressure deficit) (Osmotic pressure) (Turgor pressure)

Diese Darstellung ist wenig zweckmäßig, denn die Bezeichnung einer physikalischen Größe durch 2 und sogar 3 Buchstaben ist nicht üblich und verwirrend. Wie gefährlich es ist, den osmotischen Wert als osmotischen Druck zu bezeichnen, haben wir oben gezeigt.

Levitt (l. c.) lehnt mit Recht den mißverständlichen Gebrauch von Buchstaben in dieser Gleichung ab; zugleich schlägt er vor, daß das „Defizit" in der Gleichung klar zum Ausdruck kommt und betrachtet einen Druck, der Wasser in die Zelle einpreßt, als negativ. Seine Gleichung lautet somit:

$$D_c - D_{H_2O} = P_w - O_c$$

Dabei bedeutet D_c den Diffusionsdruck der Lösung, D_{H_2O} den höheren Diffusionsdruck des reinen Wassers, P_w den Wanddruck und O_c das osmotische Potential des Zellsaftes also den osmotischen Wert. Hierzu wäre zu bemerken, daß weder D_c noch D_{H_2O} direkt meßbar sind; meßbar ist vielmehr immer nur die Differenz. Es ist nun höchst merkwürdig, wenn man eine direkt meßbare Größe (die Saugkraft) als Defizit von zwei nicht meßbaren Größen darstellt. Damit ist sicher nichts gewonnen und es läuft auf das Prinzip hinaus: „Warum soll man etwas einfach erklären, wenn man es kompliziert machen kann."

In Deutschland hat sich Stocker (l. c. S. 112) dieser Nomenklatur zum Teil angeschlossen, indem er sagt: „Der gegenüber reinem Wasser erniedrigte Diffusionsdruck einer Lösung führt zu einem Diffusionspotential, wenn die Lösung durch eine semipermeable Membran gegen Wasser (oder eine Lösung anderer Konzentration) abgegrenzt und an der Vermischung gehindert ist." „Das Diffusionspotential verursacht dann eine Wasserbewegung von der Seite des reinen Wassers (oder der Lösung geringerer Konzentration) nach derjenigen der Lösung (Osmose)". Er führt außerdem einen neuen Begriff „Chemisches Potential des Wassers" ein, der, wie uns scheint, mit dem „Hydraturbegriff" identisch ist.

Diese Ausführungen wurden nicht aus einem Hang zur Kritik gemacht, sondern nur aus dem Bestreben, auf Grund von langjährigen Erfahrungen den Studierenden das Verständnis für die Fragen der osmotischen Erscheinungen bei Pflanzen zu erleichtern. Denn man kann von Anfängern, für die die Lehrbücher bestimmt sind, nicht erwarten, daß sie selber die Widersprüche erkennen oder sich in der dauernd wechselnden Terminologie zurechtfinden[1]. Deshalb sei nochmals der Vorschlag gemacht, die osmotische Zustandsgröße durch folgende Gleichung auszudrücken:

Saugkraft (Sog) = Osmotischer Wert minus Druck (Turgor) oder

$$S = W - P.$$

[1] Verfasser wäre dankbar, wenn man ihn auf Widersprüche in seiner Darstellung (Einführung in die Phytologie I, 3. Aufl. 1950), die ihm selbst entgangen sind, aufmerksam machen würde.

Autorenverzeichnis des 40. Bandes.

Bauer, L., Studien zum Heterophyllieproblem. S. 515.

Beythien, A. s. Guttenberg, H. v. S. 36.

Bringmann, G., Über Beziehungen der Kernäquivalente von Schizophyten zu den Mitochondrien höher organisierter Zellen. S. 398.

Engel, H., und I. Friederichsen, Weitere Untersuchungen über periodische Guttation etiolierter Haferkeimlinge. S. 529.

Friederichsen, I. s. Engel H. S. 529.

Gessner, F., Der Druck in seiner Bedeutung für das Wachstum submerser Wasserpflanzen. S. 391.

Guttenberg, H. v., und A. Beythien, Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. S. 36.

— und G. Meinl, Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. II. Mitteilung. Über den Einfluß des p_H-Wertes und der Temperatur auf die durch Heteroauxin bedingten Veränderungen der Wasserpermeabilität. S. 431.

— s. Schade, Chr. S. 170.

Haccius, B., Über die Blattstellung einiger Hydrocharitaceen-Embryonen. S. 333.

— Die Embryoentwicklung bei *Ottelia alismoides* und das Problem des terminalen Monokotylen-Keimblatts. S. 443.

Heimann, M., Abhängigkeit des Blutungsverlaufes von Beleuchtung und Blattzahl. (Untersuchungen an Kalanchoë Bloßfeldiana.) S. 377.

Heimerdinger, G., Zur Mikrotopographie der Saftströme im Transfusionsgewebe der Koniferennadel. II. Mitteilung. S. 93.

Höhn, K., Nachreifestudien an *Datura*-Samen. S. 407.

Huber, B., und G. Merkenschlager, Über die Wirkung kleinster Saugkräfte auf die Samenkeimung. S. 112.

Kandler, O., Über eine physiologische Umstimmung von Sonnenblumenstengelgewebe durch Dauereinwirkung von β-Indolylessigsäure. S. 346.

Meinl, G. s. Guttenberg, H. v. S. 431.

Merkenschlager, G. s. Huber, B. S. 112.

Moewus, F., L. Moewus und H. Skwarra, Nachweis von zwei Wuchsstoffen in Samen und Wurzeln der Kresse *(Lepidium sativum)*. S. 254.

Moewus, L. s. Moewus, F., und H. Skwarra. S. 254.

Pirson, A., C. Tichy und G. Wilhelmi, Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. I. Mitteilung. I. Vergleichende Untersuchungen an Mangelkulturen von Ankistrodesmus. S. 199.

Raadts, E., Über den inaktiven Wuchsstoff der Haferkoleoptile. S. 419.

Rabiger, F. H., Untersuchungen an einigen Acanthaceen und Urticaceen zur Funktion der Cystolithen. S. 121.

Rosenstock, G., Kohlendioxyd-Entbindung nichtassimilierender Gewebe im Licht. Kritische Studien zum Problem der Lichtatmung. S. 70.

Roth, I., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Schildblätter. S. 350.

Schade, Chr., und H. v. Guttenberg, Über die Entwicklung des Wurzelvegetationspunktes der Monokotyledonen. S. 170.

Scheuermann, R., Der Einfluß wasserlöslicher Vitamine auf die Wirksamkeit von Heteroauxin im Wachstumsprozeß der höheren Pflanzen. S. 265.

Simonis, W., Untersuchungen zum Dürreeffekt. I. Mitteilung. Morphologische Struktur, Wasserhaushalt, Atmung und Photosynthese feucht und trocken gezogener Pflanzen. S. 313.

Skwarra, H. s. Moewus, F., und L. Moewus. S. 254.

Stiefel, S., Über Erregungsvorgänge bei der Einwirkung von photischen und mechanischen Reizen auf *Coprinus*-Fruchtkörper. S. 301.

Tichy, C. s. Pirson, A., und G. Wilhelmi. S. 199.

Vareschi, V., Zur Frage der Oberflächenentwicklung von Pflanzengesellschaften der Alpen und Subtropen. S. 1.

Vogt, I., Über den Hemmstoff- und Wuchststoffgehalt in Getreidewurzeln. S. 145.

Walter, H., Kritisches zur Darstellung der osmotischen Zustandsgrößen in den verschiedenen Lehrbüchern der Botanik, S. 550.

Wilhelmi, G. s. Pirson, A., und C. Tichy S. 199.

Zech, H., Untersuchungen über den Infektionsvorgang und die Wanderung des Tabakmosaikvirus im Pflanzenkörper. S. 461.